



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DESCRIPCIÓN ANATOMO-PATOLÓGICA DEL SÍNDROME DE EDEMA,
EN RANAS JAMBATO LIMÓN (*Atelopus* sp.), MANTENIDAS EN
CAUTIVERIO EN LA Balsa DE LOS SAPOS

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

Profesor guía

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

Autora

Estefanía Margarita Villacreses Montúfar

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.

AQ409705

DECLARACIÓN DE AUTORIA DEL ESTUDIANTE

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

Estefanía Margarita Villacreses Montúfar

1719986356

AGRADECIMIENTOS

A la Balsa de los Sapos en especial a los biólogos Andrés Merino y Freddy Almeida por el apoyo y facilidades para la investigación. A la Universidad de las Américas por el apoyo y herramientas, al Dr. Alexander Genoy-Puerto parte fundamental para la realización de este estudio. Y a mi familia, por ser un apoyo constante y enseñarme que el esfuerzo y dedicación siempre me permiten alcanzar metas.

RESUMEN

El síndrome de edema es una enfermedad que se presenta con mucha frecuencia en anfibios en cautiverio, siendo éste el caso de las *Atelopus* sp., ranas endémicas del Ecuador mantenidas en la Balsa de los Sapos, un centro de conservación que pertenece a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). Una mejor caracterización de las alteraciones consecuencia de éste síndrome será el precedente para posibles estudios que permitan la prevención de esta enfermedad. El estudio se desarrolló con ocho ranas adultas, seis hembras y dos machos. Se partió de un examen ambiental y uno clínico previo a la necropsia. Algunos animales murieron por causas naturales y otros por eutanasia, se enviaron muestras para la realización de placas histológicas para su posterior lectura. En donde las principales alteraciones se evidenciaron en órganos como pulmón, hígado, piel y riñón. Se encontró como característica común en la mayoría de los órganos alteraciones vasculares como congestión de vasos sanguíneos y hemorragias agudas, adicionalmente se encontró degeneración y signos de inflamación aguda. Además se realizó un estudio paramétrico de peso, longitud y circunferencia abdominal y se analizó el porcentaje de animales que presentaban las mismas alteraciones histológicas relacionado a las condiciones de manejo, edad, peso, tamaño y alteraciones macroscópicas, que en gran porcentaje se trataban de cambios en la coloración del órgano. Después de analizar los resultados se llegó a la conclusión de que el síndrome de edema es una enfermedad enteramente vascular y que en anfibios altera la funcionalidad de los órganos, pero para la determinación de la etiología más probable es necesario seguir con estudios posteriores.

ABSTRACT

Edematous syndrome is a frequent disease in amphibians in captivity. That's the case of *Atelopus* sp., endemic frogs from Ecuador, held in Balsa de los Sapos a conservation center that belongs to Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). A better characterization of the presentation and changes resulting from this syndrome will be the precedent for possible studies that will help to prevent this disease. The study was developed with eight adult frogs, six females and two males, in which an environmental review and a clinical exam were performed before necropsy. Some animals died of natural causes and others were euthanized, samples were sent for histological plates for later reading. The main changes were found in organs such as lung, liver, skin and kidney. It was found as a common feature in most organs, vascular disorders as congestion of blood vessels and hemorrhage, in other cases degenerations, and signs of chronic inflammation. To describe the results a parametric study of weight, length and abdominal circumference was developed and also the percentage of animals with the same histological changes were threw related to captivity conditions, age, weight, size and macroscopic changes, which in a major percentage corresponded to color alterations. After all the results were analyzed it was concluded that the edema syndrome is an entirely vascular disease and in amphibians the functionality of the organs is affected indeed, but for the determination of the most likely cause is necessary to continue with further studies.

ÍNDICE

1	CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Beneficiarios.....	2
1.2	Hipótesis.....	2
1.3	Objetivos.....	2
1.3.1	Objetivo general.....	2
1.3.2	Objetivos específicos.....	3
2	CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	Características generales de <i>Atelopus</i> sp.....	4
2.1.1	Taxonomía.....	4
2.1.2	Características.....	4
2.2	Condiciones apropiadas para la mantención de anfibios en cautiverio.....	5
2.3	Fisiología de la regulación hídrica en anfibios.....	7
2.4	Síndrome de edema.....	9
2.4.1	Fisiopatología.....	9
2.4.2	Signos.....	9
2.4.3	Diagnóstico.....	10
2.4.4	Tratamiento.....	10
3	CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	12
3.1	Área de estudio.....	12
3.2	Diseño del Estudio.....	13
3.3	Animales.....	13
3.3.1	Tamaño de la muestra.....	14
3.4	Diagrama de procesos.....	15
3.5	Evaluación ambiental y clínica.....	15
3.5.1	Técnica de eutanasia.....	18
3.5.2	Técnica de necropsia.....	18
3.6	Histopatología.....	22

4	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1	Condiciones medioambientales de los terrarios	24
4.2	Biometria	25
4.3	Hallazgos macroscópicos.....	26
4.4	Hallazgos microscópicos	33
5	CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
	REFERENCIAS	56
	ANEXOS	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Disposición de los terrarios sobre los anaqueles.	13
Figura 2: Diagrama de flujo de procedimientos e instituciones donde fueron realizados.	15
Figura 3: Medición de temperatura y humedad relativa del terrario.	16
Figura 4: Evaluación de la condición y estado sanitario del terrario.	16
Figura 5: Pesaje de animales en balanza digital BOECO BBi-41.	17
Figura 6: Medición de la distancia boca-cloaca con calibrador.	17
Figura 7: Preparación de los materiales y posicionamiento del animal.	19
Figura 8: Incisión en la línea media.	20
Figura 9: Observación del animal en estereoscopio, para la identificación	20
Figura 10: Extracción de órganos.	21
Figura 11: Fracción de órganos, para el envío de muestras.	21
Figura 12: Preparación del casete histológico.	22
Figura 13: Lectura de placas en el laboratorio de histopatología de	23
Figura 14: Fotografía de corazón.	32
Figura 15: Focos hemorrágicos en lóbulos pulmonares (Animal 2814).	32
Figura 16: Riñón con coloración más oscura (Animal 3312).	33
Figura 17: Nódulo renal.	33
Figura 18: Endocarditis valvular, microfotografía válvula cardíaca (H&E).	35
Figura 19: Principales hallazgos microscópicos a nivel cardíaco.	35
Figura 20: Congestión pulmonar, microfotografía pulmón (H&E).	37
Figura 21: Alteraciones circulatorias e inflamatorias del	38
Figura 22: Principales hallazgos microscópicos a nivel pulmonar.	38
Figura 23: Hiperqueratinización, microfotografía piel (H&E).	41
Figura 24: Congestión epitelial, microfotografía piel (H&E).	41
Figura 25: Hiperplasia epidérmica, microfotografía piel (H&E).	42
Figura 26: Principales hallazgos microscópicos a nivel tegumentario.	42
Figura 27: Hemorragia hepática, microfotografía hígado (H&E).	44
Figura 28: Hemorragia hepática, microfotografía hígado (H&E).	45
Figura 29: Hemorragia severa, microfotografía vesícula biliar (H&E).	45
Figura 30: Principales hallazgos microscópicos a nivel hepático.	46

Figura 31: Lipoma hepático, microfotografía hígado (H&E).	49
Figura 32: Quiste renal, microfotografía riñón (H&E).	49
Figura 33: Alteraciones renales, microfotografía de riñón (H&E).	50
Figura 34: Principales hallazgos microscópicos a nivel renal.....	50
Figura 35: Depleción linfoidea, microfotografía de bazo (H&E).....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones ambientales de los animales en estudio.	25
Tabla 2. Análisis biométrico mediante media y desviación estándar.....	26
Tabla 3. Principales hallazgos macroscópicos a nivel cardíaco.	27
Tabla 4. Principales hallazgos macroscópicos a nivel pulmonar.....	29
Tabla 5. Principales hallazgos macroscópicos a nivel hepático y vesicular.	30
Tabla 6. Principales hallazgos macroscópicos a nivel renal.....	31

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La Balsa de los Sapos es un centro de conservación creado en el 2006 perteneciente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), su objetivo es la conservación de especies endémicas de anfibios de diferentes ecosistemas del Ecuador, a través de la investigación biológica de estas especies desarrollan estrategias de conservación y mantenimiento en cautiverio de individuos en peligro de extinción (Ron et al., 2014).

Gracias a los esfuerzos de esta institución se ha logrado generar amplia información biológica de anfibios ecuatorianos. Sin embargo, la información clínica para estudiantes y médicos veterinarios sigue siendo reducida y restringida. En este estudio se caracterizó las alteraciones histológicas que se presentaron en órganos de ranas de la especie *Atelopus* sp., afectadas por síndrome de edema, con el fin de generar información que permita mejorar la comprensión de los efectos en su estado de salud y la determinación de la causa más probable para el desarrollo de la enfermedad.

El síndrome de edema es una enfermedad de amplia presentación en cautiverio. Se asocia con frecuencia a enfermedades infecciosas (parasitarias, virales, fúngicas o bacterianas), neoplasias, fallas en capilares y/o sistema linfático e inadecuadas condiciones ambientales en el manejo en cautiverio (Vaughan, Vitalo, Payne y Eden, 2006).

Esta investigación forma parte de un proyecto de la Universidad de las Américas en convenio con la Pontificia Universidad Católica de Quito (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 proyecto tiene como objetivo la realización de un estudio sanitario y clínico de los animales mantenidos en cautiverio dentro del centro, generando así información científica para éste y otros centros de conservación de anfibios ecuatorianos y estableciendo un precedente para posibles

tratamientos y la conservación de una mayor cantidad de ejemplares de anfibios endémicos.

Adicionalmente, este estudio contribuyó con el Plan Nacional del Buen Vivir cumpliendo con el objetivo siete que establece la garantía de los derechos de la naturaleza, promueve la sostenibilidad ambiental, territorial y global y contribuye con el bioconocimiento, el cual se deriva del estudio, entendimiento, investigación y aprovechamiento sustentable de la biodiversidad (Secretaría nacional de planificación y desarrollo, 2013).

De igual manera se alineó al Plan Estratégico de la Universidad de las Américas 2015-2019, en el que se quiere generar publicaciones científicas y promover la participación de estudiantes y docentes en la rama de investigación (Universidad de las Américas, 2015).

1.1 Beneficiarios:

Veterinarios dedicados a fauna silvestre, biólogos de la Balsa de los Sapos, y estudiantes de la Universidad de las Américas y Pontificia Universidad Católica.

1.2 Hipótesis

Los principales hallazgos histopatológicos se concentran en problemas inflamatorios crónicos en los siguientes órganos: riñón, hígado y corazón cuando se evidencia edema generalizado, en ranas de la especie *Atelopus* sp.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Describir los hallazgos histopatológicos en corazón, hígado, riñón, pulmón, bazo y piel en ranas de la especie *Atelopus* sp., que se encuentran afectados

por síndrome de edema y son mantenidos en cautiverio en la Balsa de los Sapos (PUCE).

1.3.2 Objetivos específicos

- Efectuar un examen físico y medioambiental previo a la necropsia para evaluar las condiciones de manejo.
- Describir macroscópicamente las lesiones encontradas en órganos y tejidos al momento de la necropsia de los animales afectados por síndrome de edema.
- Comparar la histología de los tejidos muestreados con la histología normal de los mismos para evidenciar las alteraciones a través de lectura de placas histológicas que permanecerán en la Universidad de las Américas para material de enseñanza.

2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Características generales de *Atelopus* sp.

2.1.1 Taxonomía

Las *Atelopus* son anfibios con gran diversidad de especies distribuidas a nivel mundial. Sin embargo, la sub-especie *Atelopus* sp., sigue siendo relativamente nueva y muy poco estudiada. Pertenecen al reino animalia, filo chordata, a la clase amphibia de la familia bufonidae, de la especie *Atelopus*, subespecie *Atelopus* sp (Ron et al., 2014).

2.1.2 Características

La rana *Atelopus* sp., es conocida como Jambato limón por estar mayormente distribuida en el cantón Limón Indanza en la provincia de Morona Santiago, en el oriente Ecuatoriano. Actualmente, se encuentra en peligro de extinción por la destrucción de su hábitat debido a procesos antropológicos como deforestación, minería y el temor de la gente por ser venenosas. Por todas estas razones es necesaria la crianza *ex-situ* e investigaciones que permitan conocer aspectos relevantes de sanidad que contribuyan a su conservación (Ortiz, 2010).

Estas ranas pertenecen a uno de los grupos más diversos del neotrópico, existen 89 especies reconocidas que habitan desde zonas a nivel del mar hasta páramos sobre 4500 m. Son especies diurnas, terrestres y arborícolas que por lo general presentan colores vivos, movimientos lentos y viven cerca de ríos y riachuelos (Peña, 2010).

La Jambato limón es una rana negra con franjas amarillas o verdes que son indicativos de la producción de veneno. En la adultez los machos llegan a medir cerca de 33 mm y las hembras 44 mm, se alimentan principalmente de

hormigas pequeñas y escarabajos y su actividad se ve influenciada por la humedad (Peña, 2010).

2.2 Condiciones apropiadas para la mantención de anfibios en cautiverio

Existen condiciones básicas que se deben cumplir para el mantenimiento de anfibios en cautiverio. Principalmente se debe procurar que el lugar de albergue, el agua, las condiciones ambientales, la alimentación, la expresión del comportamiento natural y la atención veterinaria sean adecuadas.

Para empezar con una actividad de crianza *ex situ*, es fundamental contar con los mínimos estándares de bioseguridad que incluyen pediluvios a la entrada de cada área, tratamiento de aguas residuales, incineración de residuos biológicos después de la necropsia, terrarios de tamaño adecuado y a prueba de escape, control de plagas y agua libre de patógenos y componentes químicos (Murray et al., 2011).

Los recintos pueden ser de diversos materiales como vidrio, acrílico, plástico, fibra de vidrio y otros materiales sintéticos. Es de suma importancia que el material usado no tenga porosidades y que sea fácil de limpiar adicionalmente deberá contar con tapas de tela mosquitera que permitan la ventilación. La desventaja de los terrarios de plástico es que la superficie lisa se pierde a medida que pasa el tiempo y necesitará pulirse para que no se opaque. Los terrarios deben ser enriquecidos con plantas y ramas que permitan a los animales reposar, esconderse y trepar (Poole y Grow, 2008).

Los sustratos tienen la función de atrapar el agua y mantener la humedad, van colocados en el fondo del terrario y se recomienda que haya aislamiento mediante mallas entre el sustrato y el animal. Los más recomendados son aquellos ecológicos y de bajo costo, como la tierra de maceta aunque su gran desventaja es que los componentes no están bien regulados y puede sobrecargarse de agua permitiendo el sobre crecimiento de bacterias, nemátodos y otros microorganismos no deseados. También se habla de las

rocas y grava aunque en algunos casos los animales pueden ingerirlas y producirse impactaciones, es pesada y puede dar al terrario un aspecto muy artificial. La arena por otro lado, es relativamente barata pero ingerida en grandes cantidades puede producir el mismo problema que las rocas (Poole y Grow, 2008).

Los anfibios dependen de la vía cutánea para la obtención de agua, ya que ellos no la toman por vía oral, esto los hace extremadamente sensibles a los cambios en el agua, la cual debe tener una temperatura, pH, nivel de amonio y nitritos óptimos y constantes. El agua no debe contener cloro, para lo que se recomienda reposarla por uno o dos días para permitir que el cloro se disipe naturalmente en forma de gas. En los terrarios habituales se necesita que el agua contenga minerales de manera equilibrada, como calcio y magnesio, para prevenir desbalances osmóticos dentro del cuerpo de los anfibios (Poole y Grow, 2008).

Al tratarse de anfibios de climas tropicales se debe evaluar su respuesta a temperaturas que oscilan entre los 20 y 25°C, estos valores son estimados como los más frescos, ya que una muy alta temperatura es más peligrosa que una muy baja. Es importante que se evalúe el color de los animales y su actividad para el ajuste de la temperatura, puede encontrarse animales que se presenten más oscuros, sin actividad y sin producción de heces en donde la temperatura deberá ser aumentada. Las condiciones ambientales perfectas deberán reflejar variantes de humedad y temperatura durante el día, similares a las que se darían en vida libre (Pough, 2007).

Las *Atelopus* son ranas que se asolean con frecuencia por lo que necesitan mayor cantidad de luz ultravioleta que otras especies. La mejor opción es la luz natural pero no siempre está disponible, pueden usarse temporizadores para mantener el fotoperiodo. La luz ultravioleta no llega a sustituir la iluminación natural y debe tenerse algunos cuidados para su manejo como mantener las lámparas a una distancia prudencial de los animales y el cambio de los focos

deberá ser gradual para evitar sobrepasar el tiempo de vida útil (Poole y Grow, 2008).

2.3 Fisiología de la regulación hídrica en anfibios

Las dos condiciones que se pueden presentar en cautiverio son deshidratación o sobrecarga de fluidos. La sobrecarga de fluidos generalmente resulta en distensión de la cavidad celómica por la acumulación de líquido de baja densidad y bajo contenido proteico. Ésta condición se conoce como hidroceloma y en el caso de que exista presencia de líquido subcutáneo se conoce con el nombre de anasarca (Wright, 2006).

La cantidad de agua que se absorbe vía oral o a través del sistema gastrointestinal es muy poca, la mayor cantidad de agua se absorbe a través de la piel la cual tiene ciertas características que permiten su permeabilidad (Wright, 2006).

La piel de los anfibios es su mecanismo de interacción con el medio, además de servir como protección mecánica, es la vía de intercambio de gases, agua y otros elementos. La piel está constituida por dos grandes capas, la epidermis externa y la interna. La capa externa está constituida por el estrato córneo bajo ésta se encuentran el estrato granuloso, el estrato espinoso y por último el estrato germinativo. En los adultos el estrato córneo contiene queratina, cuando hay un nivel bajo de queratinización el estrato córneo se desprende para la muda de piel. La dermis está compuesta del estrato esponjoso en donde se encuentran fibras de colágeno y elastina, glándulas, vasos sanguíneos y nervios, debajo está el estrato compacto que contiene capas compactas de fibras de colágeno (Wells, 2007).

La piel de los anfibios no es uniforme en su morfología ni en su fisiología a lo largo del cuerpo, varía en delgadez, vascularización y permeabilidad hacia el agua e iones y en su respuesta hormonal. La porción ventral de la piel está más vascularizada que la dorsal especialmente la región pélvica, en donde hay

mayor absorción de agua. El mecanismo de absorción se hace a través de osmosis por los capilares, además la piel pélvica responde a la hormona vasotocina (AVT), una hormona que incrementa la permeabilidad de la piel. En algunas especies se ha determinado que los machos tienen una mayor capacidad de absorción y respuesta a la vasotocina, haciendo que se establezca un rol de hormonas sexuales dentro de la regulación hídrica (Wells, 2007).

Se habla que el grupo de *Atelopus* tiene una pérdida de agua de 31,3 mg por centímetro cuadrado por hora, siendo esta una de las más altas. Para evitar la pérdida de líquido los animales pueden cesar la excreción de orina y acelerar la producción y reabsorción de urea (Wells, 2007).

El sistema linfático también juega un papel fundamental en la regulación hídrica, los anfibios poseen grandes sacos linfáticos bajo la piel donde el líquido se acumula. Se demostró en anfibios acuáticos, con un sistema linfático más desarrollado, que la función de éste sistema es eliminar el exceso de líquido, lo que indica que probablemente el agua que ingresa a través de la piel se dirige al sistema linfático de donde se drena por el sistema porta renal al riñón y se elimina el exceso de agua (Wells, 2007).

Los anfibios tienen una alta tasa de filtración glomerular y una alta capacidad de reabsorber solutos a través de los túbulos del riñón y responden a la acción hormonal de la vasotocina, una hormona anti-diurética. El riñón de los anfibios no puede concentrar orina cuando el nivel de osmolalidad del plasma es mayor y además no posee una Asa de Henle verdadera, por lo que diuréticos que actúan en esta zona como la furosemida, no tienen efecto sobre los anfibios (Wright, 2006).

Sin embargo algunos autores se refieren a las porciones gruesas tubulares de la nefrona que conducen de los túbulos contorneados proximales a los distales como Asa de Henle (Wiechmann y Wirsig, 2003).

2.4 Síndrome de edema

El síndrome de edema en ranas se refiere al acúmulo patológico de líquido, ya sea subcutáneo o en la cavidad celómica, hay un sin número de causas que pueden desencadenar el desarrollo de esta enfermedad como la disfunción de capilares y sistema linfático, causas infecciosas (parasitarias, virales, bacterianas o micóticas), neoplasias y/o condiciones no adecuadas de manejo como el uso de agua con bajos niveles de solutos disueltos (Vaughan et al., 2006).

2.4.1 Fisiopatología

La fisiopatología depende estrechamente de la causa por la que se está produciendo el edema. A manera general cuando hay alteraciones en la regulación del agua se puede desencadenar una ingesta anormal de la misma, estimulando la formación de gas dentro de la cavidad celómica, lo que lleva a la acumulación de líquido linfático en los sacos linfáticos dorsales de la cavidad produciendo anasarca (Meredith y Redrobe, 2007).

El síndrome de edema en anfibios se presenta comúnmente como líquido trasudado, que como señala Cheville (1998) se trata de un edema no inflamatorio el cual se produce por cambios en la presión hidrostática y óncotica, en contraste con el edema inflamatorio en donde el daño endotelial conduce a un incremento de la permeabilidad de los capilares y el líquido es exudado de alto contenido proteico.

2.4.2 Signos

Los signos de la enfermedad se comienzan a notar generalmente cuando ya es muy avanzada. Se observa hidroceloma, espacios subcutáneos llenos de líquido, aumento de peso por la acumulación de líquido incluso se habla que los animales duplican y hasta triplican su peso de antes de que se produzca la

enfermedad, apatía y en casos graves dificultad para moverse (Aguilar, Hernández, Divers y Perpiñán, 2010).

2.4.3 Diagnóstico

El diagnóstico de síndrome de edema se hace a través de observación directa. A la palpación el animal tiene una consistencia más suave de lo normal, la piel se encuentra flácida y si se coloca una lámpara detrás del animal se puede observar el paso de la luz a través de los tejidos. Pero ya que se trata de un síndrome para determinar su causa es necesario realizar exámenes que determinen la composición y origen del líquido (Meredith y Redrobe, 2007).

2.4.3.1 Diagnóstico de laboratorio

El líquido debe tener una composición a-celular y proteínas menores de 1 g/dl, para síndrome de edema. Se debe descartar dermatitis y septicemia a través de cultivos y descartar enfermedad hepática o renal por medio de biopsias e histopatología (Aguilar et al., 2010).

2.4.3.2 Histopatología en síndrome de edema

En estudios realizados previamente en otros animales que presentaron el mismo síndrome en la histopatología se encontró masas altamente vascularizadas con tejido fibroso y escasa diferenciación celular, además largas áreas necróticas y hemorrágicas dentro del área principal de la masa (Vaughan et al., 2006).

2.4.4 Tratamiento

Se puede tratar con baños medicados con soluciones de osmolalidad alta, como solución salina al 0,8-1% (8 a 10 g de NaCl) por litro de agua o solución de Ringer en 900 ml. La recuperación a largo plazo es difícil, puede que haya infección por microorganismos Gram negativos. La aspiración del líquido

representa un alivio temporal pero el líquido se vuelve a acumular rápidamente (Aguilar et al., 2010).

3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Área de estudio

La investigación se realizó en el centro de conservación Balsa de los Sapos, se encuentra ubicada dentro de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), en el subsuelo del edificio de la facultad de biología, Quito, Ecuador. (O°12'36'S 78°29'29').

Las ranas son mantenidas en terrarios en donde pueden habitar uno o dos ejemplares de la misma especie, estos terrarios reciben descargas de agua periódicamente y están enriquecidos con plantas y cortezas de coco para que los animales puedan desarrollar algunos comportamientos que se presentarían en su hábitat natural.

Estos terrarios se encuentran distribuidos entre dos salas. La sala A mantiene una temperatura de alrededor de 22°C, con una superficie de nueve metros de largo por seis de ancho y dos de alto y una humedad de entre 40 y 50%. La limpieza de los terrarios se hace semanalmente y está siempre bajo vigilancia del personal de la Balsa de los Sapos (PUCE). No posee ventilación y la luz que reciben los animales es exclusivamente artificial, pudiendo ser lámparas corrientes o de luz ultravioleta.

La sala E tiene una superficie de seis metros de largo por seis de ancho, posee ventilación natural y la luz varía entre natural y ultravioleta, cuenta con una temperatura de alrededor de 20°C, la limpieza también se hace semanal pero no tiene vigilancia constante como la sala A.

Las dos salas albergan anfibios de diferentes especies dentro de sus respectivos terrarios plásticos, sobre anaqueles que aíslan los terrarios del piso o del techo.



Figura 1: Disposición de los terrarios sobre los anaqueles.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

Los terrarios se limpian manualmente con agua filtrada y se cambian los sustratos cuando están en mal estado.

3.2 Diseño del Estudio

El presente estudio se considera un estudio descriptivo, ya que únicamente se comparó la histología normal de los tejidos y se describieron las lesiones que se encontraron en los órganos afectados, con el objetivo de caracterizar anatómicamente la enfermedad, por lo tanto, se realizará una estadística descriptiva a través de un análisis porcentual.

3.3 Animales

Existen 70 individuos de esta especie, de los cuales 34 presentan edema, siendo en algunos generalizados y en otros se mantiene a nivel caudal. De estos animales la Balsa de Sapos (PUCE) dispuso ocho individuos para el estudio.

3.3.1 Tamaño de la muestra

Para determinar el tamaño de la muestra se utilizó una población finita de 34 individuos correspondientes a los animales que presentaron síndrome de edema, en donde n es el tamaño de la muestra, e es el error estimado, Z es el valor de las tablas de distribución, N es el tamaño de la población, p es la probabilidad de éxito y q la probabilidad de fracaso (Rodríguez, 2005).

Se determinó el error con un nivel de confianza del 95%, teniendo como resultado de e 5%, Z es igual a 1,96 según las tablas de distribución, N es la población total de individuos y p es igual a q y esta igual a 0.5, aplicando la fórmula se tiene como resultado que:

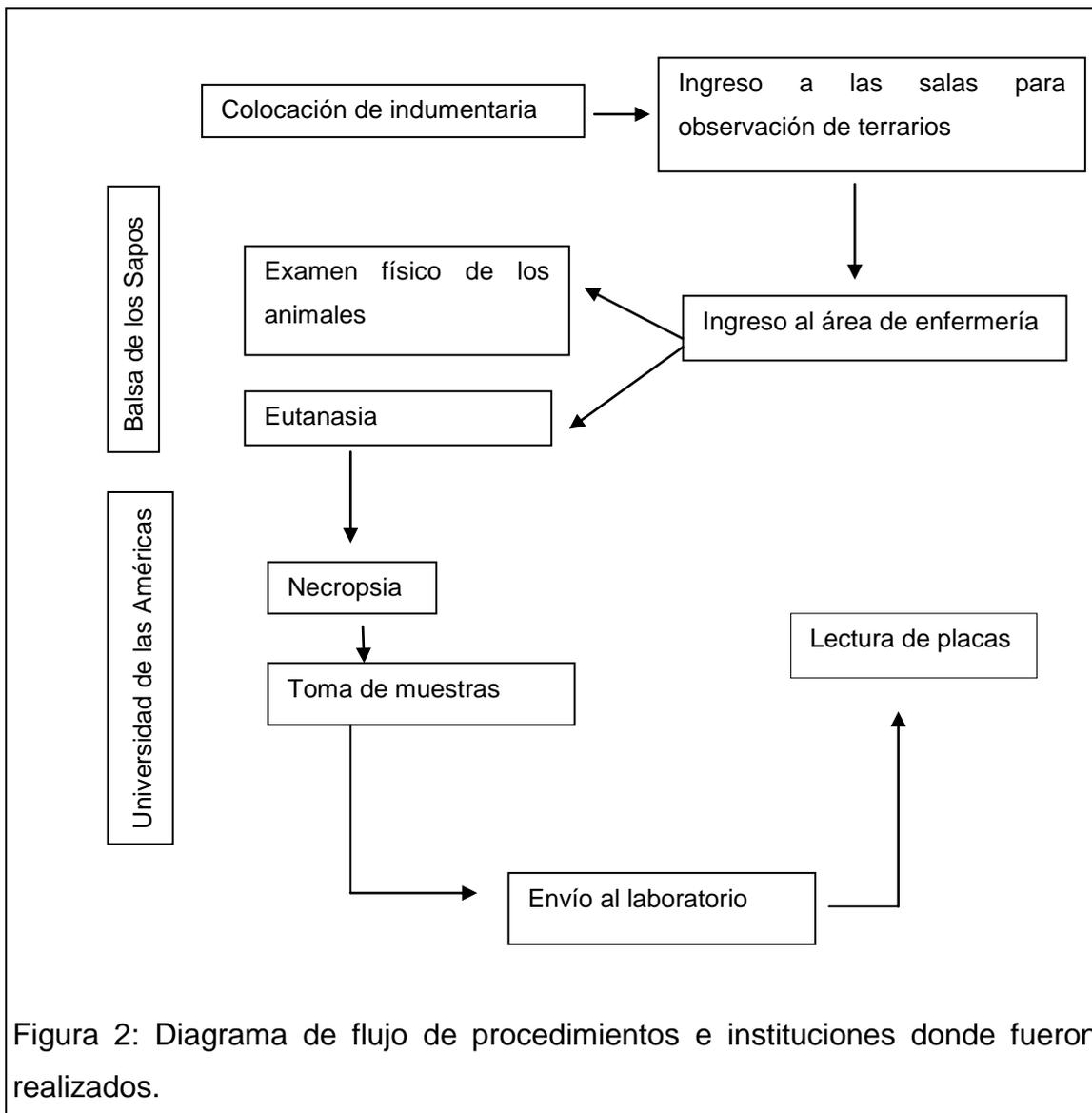
$$n = \frac{[Z^2]pqN}{[Ne^2] + [Z^2]pq} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$n = \frac{[1,96^2](0,25)(34)}{(34[0,05]^2 + [3,84](0,25))} = 31,09 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Rodríguez, 2005

Para éste estudio únicamente fueron autorizados por la Balsa de Sapos (PUCE) ocho animales con síndrome de edema que no respondían favorablemente al tratamiento. Cabe recalcar que la Balsa de los Sapos es un centro de crianza y conservación *ex situ*, por lo que no se tuvo acceso a la totalidad de animales establecidos por la formula, dependiendo únicamente de los animales cedidos por este centro, además por el corto periodo disponible para la realización de esta investigación no resultó viable la colecta de los animales en vida silvestre y la espera para que desarrollen síndrome de edema ya que esta es una enfermedad crónica.

3.4 Diagrama de procesos



3.5 Evaluación ambiental y clínica

La evaluación ambiental comenzó con el ingreso a la sala en la que se encontraba el terrario del animal que iba a entrar al estudio, mediante el empleo de un termómetro con higrómetro se procedió a tomar la temperatura ambiental, la del terrario y la humedad relativa. Además, se observaron las condiciones estructurales y ambientales del terrario, como el estado de los sustratos, la limpieza y la presencia de piel o alimento no ingerido. Se registró la información en una ficha sanitaria del terrario. Ver anexo 2.



Figura 3: Medición de temperatura y humedad relativa del terrario.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 4: Evaluación de la condición y estado sanitario del terrario.

Una vez realizado el análisis ambiental del terrario se desempeñó el examen físico de los animales en el área de enfermería de la Balsa de los Sapos (PUCE). Para este procedimiento fue necesario el uso de guantes de nitrilo sin talco y humedecidos para cuidadosamente sacar al animal del terrario,

colocarlo sobre un recipiente plástico y pesarlo en la balanza digital BOECO BBI-41. Ver imagen 4.

Para medir la distancia boca-cloaca se utilizó un calibrador. Ver imagen 5.



Figura 5: Pesaje de animales en balanza digital BOECO BBI-41.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 6: Medición de la distancia boca-cloaca con calibrador.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

En el caso de los animales que fueron eutanasiados, además de los procesos anteriormente citados, se registró en la ficha de necropsia su estado de conciencia, capacidad para moverse y las lesiones evidentes.

3.5.1 Técnica de eutanasia

Se considera la eutanasia farmacológica como la más humanitaria, los agentes más usados en sobredosis son el fenobarbital sódico inyectado por vía intravenosa o en los sacos linfáticos dorsales de la cavidad celómica, baños de inmersión en metanosulfonato de triclaína, o aplicación tópica de benzocaina (O'Rourke y Rosenbaum, 2015).

El protocolo utilizado en la Balsa de los Sapos (PUCE) fue replicado en este estudio, tratándose de una modificación del uso de benzocaina reemplazada con lidocaína por su alta disponibilidad y bajo costo. En el caso de los primeros animales la eutanasia se realizó con lidocaína y epinefrina rociada directo sobre la piel por medio de una jeringa de 5 ml, a una dosis de 40 a 100 mg dependiendo del tamaño y respuesta a la dosis inicial de cada animal. Para los siguientes animales se utilizó lidocaína en atomizador al 2%, a una dosis aproximada de 30 a 40 mg correspondientes a tres o cuatro atomizaciones.

3.5.2 Técnica de necropsia

La necropsia comenzó con una evaluación externa de mucosas y piel. Por palpación se exploró el cuerpo en búsqueda de posibles alteraciones, masas o fracturas. Posteriormente, se procedió a colocar al animal en recumbencia dorsal y se incidió en la línea media desde la región intermandibular hasta la cloaca con un escarpelo estéril, cuidadosamente se incidió la pared abdominal en la línea media aplicando la presión correcta para evitar lesionar las vísceras. Se cortó con una tijera de mayo el esternón y se expuso el corazón. Seguido se examinó las vísceras para observar posibles lesiones evidentes como nódulos, cambios en la coloración, forma y tamaño de los órganos.

A continuación, se observó el estado de los cuerpos grasos de la cavidad celómica para determinar el estado nutricional de los animales, grandes cuerpos determinan obesidad mientras que pequeños o no aparentes cuerpos determinan desnutrición. Se removieron las vísceras separando la lengua, faringe y glotis del tejido adyacente, luego se traccionó con cuidado la lengua y se separó las vísceras restantes de todo el tejido de sostén, removiendo corazón, pulmones y sistema digestivo. Se separó el hígado, bazo, tubo digestivo y por último el sistema genito-urinario, riñones, órganos reproductores y vejiga la cual generalmente pasó por alto, pero se puede identificar como una estructura de paredes delgadas en posición ventral al intestino grueso. Todos los órganos fueron examinados después de extraídos para la determinación de la presencia de lesiones evidentes (Pessier y Pinkerton, 2003).

La necropsia fue realizada dentro del laboratorio 131 ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad de las Américas en la sede Granados. Por el tamaño reducido de los órganos se utilizó un estereoscopio KRUSS para aumentar el campo de visualización y determinar de mejor manera los cambios morfológicos en los órganos. Se registró fotográficamente los hallazgos macroscópicos.



Figura 7: Preparación de los materiales y posicionamiento del animal.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 8: Incisión en la línea media.

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 9: Observación del animal en estereoscopio, para la identificación de lesiones en órganos.

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 10: Extracción de órganos.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

3.5.2.1 Toma de muestras

Cuando hay presencia de síndrome de edema los órganos básicos que se deben enviar para histopatología son piel, corazón, hígado, riñón, bazo y órganos reproductores (Pessier y Pinkerton, 2003).



Figura 11: Fracción de órganos, para el envío de muestras.
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

Para la toma de muestras se realizó cortes de los órganos más grandes con una cuchilla y en el caso de los órganos pequeños se los envió completos. Posteriormente, se envolvieron las muestras en pequeños pedazos de toalla de

papel humedecida con agua destilada, se colocaron individualmente en los casetes histológicos debidamente rotulados y fueron introducidos en formol al 10%.

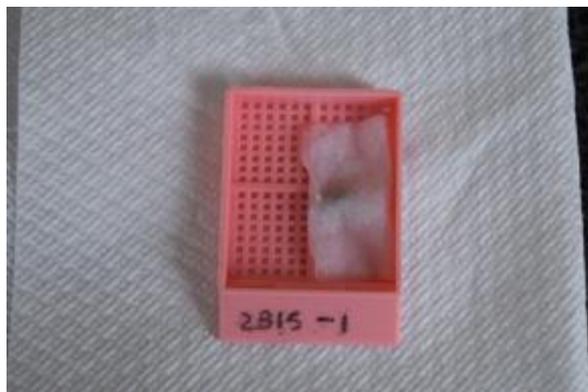


Figura 12: Preparación del casete histológico.

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

La porción sobrante de los órganos y los esqueletos fueron colocados en formol al 10% dentro de frascos plásticos con tapa rosca para evitar el derrame del formol, debidamente identificados y se los conservó en una caja de espuma flex dentro del laboratorio de la Universidad de las Américas. Es importante señalar que los animales no superaban los 50 mm de distancia boca-cloaca, lo que sugiere el tamaño de sus órganos, por lo tanto, ninguna muestra superó los 5 a 10 mm de espesor, asegurando una correcta fijación en formol.

Las muestras en primera instancia fueron procesadas por un servicio técnico privado y posteriormente por el servicio de histopatología de la Universidad de las Américas.

3.6 Histopatología

Las placas fueron leídas en el laboratorio de histopatología de la Universidad de las Américas y se registró en una ficha los hallazgos microscópicos.

El análisis de los tejidos colectados se realizó con un microscopio óptico CX21® (Olympus), en los objetivos 4x, 10x, 40x y en casos necesarios 100x. Se contó con la asesoría del director de la tesis, PhD. Genoy-Puerto para la interpretación de los hallazgos y el apoyo de un atlas de histología de anfibios. Cuando se mereció microfotografías de las lesiones encontradas se utilizó el microscopio Axio Lab.A1® (Zeiss) y cámara AxioCam Erc 5s® (Zeiss).



Figura 13: Lectura de placas en el laboratorio de histopatología de la Universidad de las Américas.

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la presentación de los resultados se tomó en consideración las etapas de análisis señaladas en la metodología, siendo estas el examen de condiciones ambientales, examen físico y la biometría del peso, longitud o distancia boca-cloaca y circunferencia abdominal. Adicionalmente, se separó los resultados de las lesiones macroscópicas de las microscópicas en los órganos dentro del estudio: piel, músculo, hígado y vesícula, bazo, riñón, corazón, pulmón y órganos reproductores y se realizó un análisis porcentual.

4.1 Condiciones medioambientales de los terrarios

Se evidenció a través del análisis de las condiciones medioambientales que el factor relativamente constante en todos los casos es la temperatura, pero la humedad relativa varía ampliamente a través de los terrarios. Ver Tabla 1. Además que según lo citado anteriormente por Pough (2007) dentro de las condiciones de cautiverio la temperatura es adecuada y se encuentra en el rango de 20 a 25°C. Es necesario aclarar que este análisis no es determinante en los resultados de los hallazgos a la necropsia, además que son datos que fueron tomados en diferentes días y horas, pero puede ser útil para la aproximación de la causa de la enfermedad y es parte de una evaluación sanitaria previa a la necropsia.

Tabla 1. Condiciones ambientales de los animales en estudio.

Identificación	Sexo	Temperatura interna (°C)	Temperatura externa (°C)	Humedad relativa (%)
2607	Hembra	23,10	22,90	76,00
2814	Hembra	21,50	22,70	74,00
2815	Hembra	22,50	22,90	58,00
2830	Hembra	21,50	22,90	62,00
2860	Hembra	22,70	22,90	45,00
2992	Hembra	21,50	22,90	59,00
2855	Macho	22,50	22,75	58,00
3312	Macho	21,45	22,70	54,00
Media (desviación estándar)		22, 09 (\pm 0,67)	22,83 (\pm 0,10)	60,75 (\pm 10,15)

4.2 Biometria

Se evidenció a través de los datos obtenidos en este análisis que los machos tienen una longitud y peso poco menores que las hembras, al igual que la circunferencia abdominal. Ver tabla 2.

Se puede corroborar a través de los valores obtenidos que se trataba de individuos adultos. Los machos presentaron una longitud promedio de 35,25 mm y las hembras una longitud promedio de 45,18 mm, lo que demuestra que hay un ligero aumento del tamaño según lo que describe Peña (2010), quien señala que los machos tienen una longitud de 33 mm y las hembras de 44 mm, pero según lo que describe el mismo autor acerca de una mayor longitud en hembras los animales en estudio guardan esa relación.

Tabla 2. Análisis biométrico mediante media y desviación estándar.

Animales	Peso (g)	Distancia boca-cloaca (mm)	Circunferencia abdominal (mm)
<i>Atelopus</i> sp.	7,41 (\pm 2,27)	42,70 (\pm 5,14)	34,375 (\pm 8,73)
Hembra	7,97 (\pm 2,05)	45,18 (\pm 2,52)	35,00 (\pm 10,12)
Macho	5,74 (\pm 2,72)	35,25 (\pm 2,33)	32,50 (\pm 3,54)

4.3 Hallazgos macroscópicos

Los hallazgos macroscópicos fueron más difíciles de identificar por el pequeño tamaño de los órganos de los animales. La mayoría de animales no presentaron alteraciones en varios sistemas, sin embargo en los hallazgos microscópicos sí se identificaron lesiones.

En la necropsia se confirmó la presencia de hidroceloma ya que hubo drenaje de líquido en el momento de realizar la incisión en la línea media en todos los animales. La cantidad de sustancia fue de moderada a severa, con un color transparente, sin olor y de consistencia acuosa.

Corazón

Las principales alteraciones macroscópicas encontradas en corazón fueron hidropericardio en un animal (1/8) 12,5% de la población y necrosis del miocardio en el mismo porcentaje (1/8) 12,5%. El 75% restante de la población (6/8) no presentó cambios. Ver tabla 3.

Hidropericardio: se caracterizó por la presencia de líquido transparente en el espacio pericárdico, en cantidad moderada aproximadamente 0.5 ml. Se consideró este hallazgo como hidropericardio, ya que, como describe Miller, Van y Gal (2012) el pericardio normalmente contiene una pequeña cantidad de líquido seroso transparente y forma el saco que rodea el corazón, pero en este caso el líquido era abundante. Además señala que en fases agudas el

pericárdio mantiene su suavidad y brillo, pero en casos crónicos el epicardio puede aparecer áspero y granular porque hay gran proliferación tejido fibroso, tratándose en éste caso de una fase aguda ya que no se observaron cambios en el epicardio.

Las causas más probables son la hipoproteïnemia causada por falla hepática o pérdida de proteínas por nefropatías o enteropatías, insuficiencia cardíaca congestiva o alteraciones en los capilares que permitan fugas de pequeñas cantidades de proteínas plasmáticas (Miller et al., 2012).

Necrosis del miocardio: el miocardio presentó áreas redondeadas blanquecinas difusas de alrededor de 3 mm desde el borde craneal hacia el borde medial, junto con coloración pálida del músculo se consideró este hallazgo como una necrosis del miocardio ya que como señala Miller y otros (2012), la necrosis del miocardio macroscópicamente se observa como áreas pálidas inicialmente, pero cuando se vuelven crónicas se convierten en áreas prominentes de coloración amarilla o blanca. La lesión puede ser focal, multifocal o difusa, puede estar relacionada con deficiencias nutricionales, toxinas, alteraciones metabólicas y condiciones hereditarias.

Tabla 3. Principales hallazgos macroscópicos a nivel cardíaco.

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Hidropericardio	Vascular	12,5 % (1/8)	2992
Necrosis del miocardio	Vascular	12,5% (1/8)	2607
Sin cambios		75% (6/8)	

Pulmón

Los principales hallazgos macroscópicos en pulmón fueron edema pulmonar presente en dos animales (2/8) o en el 25% de la población y hemorragia

pulmonar en un animal (1/8) 12,5%. En los (5/8) animales restantes o en el 65,5% de la población no se observaron cambios. Ver tabla 4.

Edema pulmonar: se observó una ligera consistencia globosa de los pulmones que al corte arrojaron líquido transparente en poca cantidad y un ligero aumento del tamaño normal del órgano. Según López (2012) los pulmones edematizados se observan húmedos y pesados, el color puede variar dependiendo del grado de congestión o de la presencia de hemorragia. En el caso de las *Atelopus* sp. el aumento de peso de los órganos se vuelve difícil de determinar por el tamaño reducido de los mismos.

El edema pulmonar ocurre cuando la presión hidrostática está elevada o la presión oncótica disminuida dentro de los vasos sanguíneos pulmonares. De acuerdo a esto, el edema se clasifica en dos grupos: de origen cardiogénico cuando la función del corazón se ve comprometida y la presión sanguínea aumenta, o de origen no cardiogénico cuando hay reacciones alérgicas que debilitan la pared de los vasos, malnutrición o enfermedad hepática que reducen la presión oncótica por deficiencia proteica y enfermedad renal con pérdida de proteína o retención de líquidos (López, 2012).

Congestión pulmonar: se observó una coloración moderadamente más rojiza en los bordes de los lóbulos caudales de ambos pulmones, según López (2012) la congestión pulmonar es el resultado pasivo del escape de sangre venosa causada generalmente en las primeras etapas de la insuficiencia cardíaca congestiva, habitualmente una congestión pulmonar desencadena edema, salida de eritrocitos al espacio alveolar y los pulmones se observan más rojizos.

Tabla 4. Principales hallazgos macroscópicos a nivel pulmonar.

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Edema pulmonar	Vascular	25% (2/8)	2855 y 2860
Congestión pulmonar	Vascular	12,5% (1/8)	2814
Sin cambios		65,5% (5/8)	

Piel

En piel no se observaron cambios macroscópicos, correspondientes a consistencia, color, grosor, o continuidad.

Hígado y vesícula biliar

Solo un individuo (1/8) o el 12,5% de la población presentó alteraciones en la anatomía hepática. De igual manera un individuo (1/8) o el 12,5% de la población presentó hemorragia vesicular y el 75% restante no presentó alteraciones a nivel de estos órganos Ver tabla 5.

Hepatitis: el hígado presentó una coloración blanquecina lateral a los bordes caudales y craneales del lóbulo derecho del hígado, de aproximadamente 1 mm. Como señala Cullen y Brown (2012) cuando la mayoría de hepatocitos en una zona están degenerados esa zona aparece pálida, a diferencia de una necrosis donde ocurre una dilatación y congestión de sinusoides y el área aparece roja. La degeneración puede estar causada por bacterias, virus, hongos, medicamentos o desbalances nutricionales, además puede tratarse de una esteatosis que puede causar áreas pálidas en el margen del parénquima hepático.

Hemorragia vesicular: la vesícula presentó una pérdida severa de la coloración normal presentándose blanquecina, al corte no se encontró contenido biliar por lo que se cree existía obstrucción del conducto hepático que puede deberse según Cullen y Brown (2012) a parásitos, cálculos o inflamación adyacente generalmente pancreática.

Tabla 5. Principales hallazgos macroscópicos a nivel hepático y vesicular.

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (fracción)	Identificación
Hepatitis	Degenerativa	12,5% (1/8)	2855
Hemorragia vesicular	Vascular	12,5% (1/8)	2814
Sin cambios		75% (6/8)	

Riñón

En tres de los animales muestreados (3/8) o en el 37,5% de la población se encontró nefritis, además el hallazgo macroscópico más interesante fue una neoplasia que se halló junto al riñón de un individuo (1/8) o el 12,5% de la población. El 50% de la población restante no presentó cambios. Ver tabla 6.

Nefritis: en el individuo 2830 se encontró un leve aumento de grosor y una coloración levemente más oscura en ambos riñones, en el individuo 2855 se encontró una palidez moderada en la coloración del riñón derecho y en el individuo 3312 se encontró una coloración levemente más oscura en ambos riñones. Según Newman (2012) en la nefritis túbulo-intersticial los riñones pueden verse pálidos con manchas grises en la superficie de la cápsula, además se puede observar infiltrado gris al corte, al igual que en la fibrosis donde el riñón también puede presentarse pálido de consistencia firme y una excesiva adherencia de la cápsula a la corteza, estas dos lesiones son crónicas y pueden ser secundarias a glomerulonefritis, infecciones ascendentes del

tracto urinario, infecciones sistémicas, o secundarias a problemas como hipoalbuminemia, insuficiencia cardíaca congestiva y vasodilatación sistémica. En éste caso los hallazgos macroscópicos se acercan más a fibrosis.

En el caso de los animales 2830 y 3312 donde los riñones se encontraron más oscuros se trataría de una hiperemia renal. Según Newman (2012) los riñones adquieren una coloración roja más oscura cuando hay hiperemia usualmente secundaria a una inflamación aguda, shock hipovolémico, insuficiencia cardíaca o problemas en la circulación sanguínea.

Neoplasia renal: en el individuo 2992 se encontró pequeños nódulos en la cápsula renal que alteraban los bordes regulares del órgano, de tamaños que iban entre los 2 a 4 mm dispersos alrededor de todo el órgano. Adicionalmente, se encontró una masa de aproximadamente 6 mm, de bordes regulares y coloración rosada adherido al riñón por medio de tejido conectivo. Para determinar su origen y características fue necesario el análisis microscópico.

Tabla 6. Principales hallazgos macroscópicos a nivel renal.

Diagnóstico morfológico	Tipo de lesión	Porcentaje (Fracción)	Identificación
Nefritis	Inflamatoria	37,5% (3/8)	2830, 2855 y 3312
Nódulo renal	Neoplásica	12,5% (1/8)	2992
Sin cambios		50% (4/8)	

Bazo

No se encontraron alteraciones macroscópicas en bazo correspondientes a coloración, forma, tamaño y consistencia del órgano.

Sistema Reproductor (Ovarios, infundíbulo y Testículos)

No se encontraron alteraciones macroscópicas en ovarios, infundíbulo o testículos correspondientes a coloración, forma, tamaño y consistencia de estos órganos.

Después de considerar los hallazgos macroscópicos y la literatura citada es claro que la mayoría de hallazgos se tratan de afecciones vasculares en las que las causas comunes son insuficiencia cardíaca congestiva, alteraciones en la estructura de capilares y/o desbalance hidrostático u osmótico.

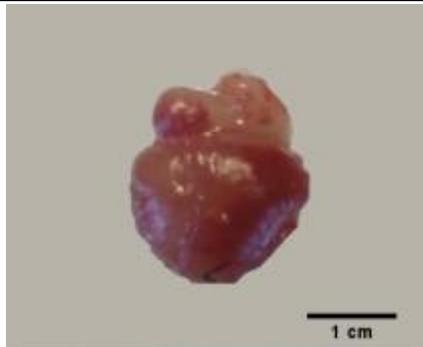


Figura 14: Fotografía de corazón.

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Corazón con áreas blanquecinas en la zona craneal y leve disminución de la coloración normal de la musculatura cardíaca (Animal 2607).



Figura 15: Focos hemorrágicos en lóbulos pulmonares (Animal 2814).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 16: Riñón con coloración más oscura (Animal 3312).
Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)



Figura 17: Nódulo renal.

a) Nódulo adherido al área craneal del riñón y pequeñas masas difusas en el estroma renal correspondientes al (Animal 2992).

4.4 Hallazgos microscópicos

Se encontró como alteración principal en casi la totalidad de los órganos analizados congestión de vasos sanguíneos, seguida de hemorragia y edema. Los cambios más notorios y severos fueron encontrados en riñón. Es importante aclarar que para establecer el análisis porcentual en la presentación de resultados en algunos casos se tomó en cuenta el hallazgo microscópico

más importante, pero si se presentó más de una alteración en los órganos descritos a continuación.

Corazón

Miocarditis aguda: en el animal 2830 se observó infiltrado inflamatorio eosinofílico focalizado en el atrio, de carácter leve y agudo. Como señala Miller y otros (2012) la miocarditis idiopática se describe como una inflamación eosinofílica, en donde en una fase aguda microscópicamente se puede observar disrupción de las fibras musculares por células inflamatorias, edema y fibrosis, también se puede observar las fibras musculares más oscuras cuando hay necrosis y en algunos casos se pueden observar en el área necrótica macrófagos en fagocitosis. En el tejido muestreado únicamente se pudo apreciar disrupción de las fibras musculares por células inflamatorias eosinofílicas granuladas compatibles con eosinofilos (Aughey y Frye, 2011).

Pericarditis parietal: en el animal 2992 se observó hipertrofia de las células del epicardio focalizado, leve de carácter crónico, junto con congestión de vasos sanguíneos según Miller y otros (2012) la pericarditis microscópicamente se observa como una capa de tinción eosinofílica de fibrina con presencia de neutrofilos y congestión del epicardio, generalmente por infección bacteriana. No siendo este el caso ya que únicamente se observó congestión y una leve hipertrofia focalizada.

Endocarditis: en el animal 3312 se observó aumento generalizado de tejido fibroso en la capa esponjosa de las válvulas de carácter moderado y un conglomerado de células basofílicas de gran tamaño focalizadas en el epicardio, compatible con macrófagos en fagocitosis. Miller y otros (2012) describen la endocarditis a la observación microscópica como capas acumuladas de fibrina y numerosas colonias bacterianas rodeadas de infiltrado leucocitario y tejido de granulación. En el tejido analizado se pudo observar aumento del grosor y presencia de tejido fibroso en las válvulas cardíacas junto con colonias bacterianas embebidas por un infiltrado leucocitario y áreas de necrosis focalizada. Ver imagen 17.

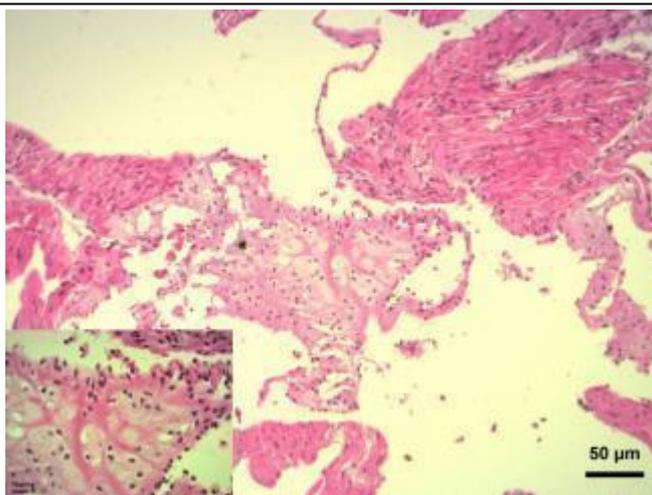


Figura 18: Endocarditis valvular, microfotografía válvula cardíaca (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa presencia de tejido fibroso en la capa esponjosa de la válvula cardíaca. 10x. Recuadro: 40x. (Animal 3312).

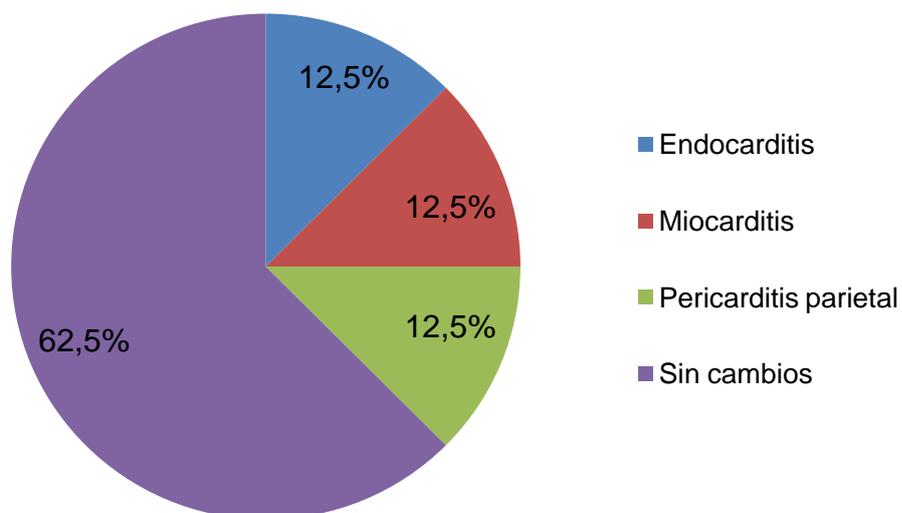


Figura 19: Principales hallazgos microscópicos a nivel cardíaco.

En el gráfico podemos observar que el 62,5% (5/8) no presentó cambios a nivel cardíaco, el 12,5% (1/8) presentó endocarditis, en la misma proporción se encontró pericarditis parietal (1/8) en el 12,5% de la población y miocarditis.

Pulmón

Hemorragia: se observó hemorragia de características similares en los animales 2992, 2860 y 2830 en donde se presentó la hemorragia más severa, de carácter agudo. Según López (2012) en la hemorragia pulmonar se observa hemorragia alveolar, abundantes macrófagos que contienen hemosiderina y fibrosis moderada de las paredes alveolares. En este estudio se observaron hemorragias únicamente con presencia de gran número de eritrocitos en alveolos y bronquiolos. Ver imagen 18.

Edema: en el animal 2607 se observó presencia de sustancia eosinofílica en bronquiolos, multifocal de carácter moderado. Cheville (1980) señala que el edema se observa microscópicamente como distensión de los espacios tisulares por líquido eosinofílico, junto con hiperemia y distensión de vasos linfáticos siempre presente y concuerda con lo descrito por López (2012).

Enfisema: Se observó espacios transparentes que interrumpen la continuidad del tejido, focales, y de carácter moderado en el animal 2855. López (2012) señala que según la localización el enfisema se puede clasificar en enfisema alveolar o intersticial, en el caso del tejido muestreado el enfisema era alveolar el cual como señala la literatura se caracterizó por distensión o ruptura de la pared alveolar formando burbujas de aire en el parénquima pulmonar de tamaño variable. Ver imagen 19.

Congestión: se presentó en cuatro animales el 2992, 2815, 2860 y 3312, caracterizado por el aumento de eritrocitos en los capilares sanguíneos con variante en su severidad yendo esta desde focalizada a generalizada y de leve a severa. López (2012) señala que la congestión generalmente lleva a edema y salida de eritrocitos al espacio alveolar siendo el último reconocido en algunos de los tejidos muestreados como hemorragia pulmonar o alveolar.

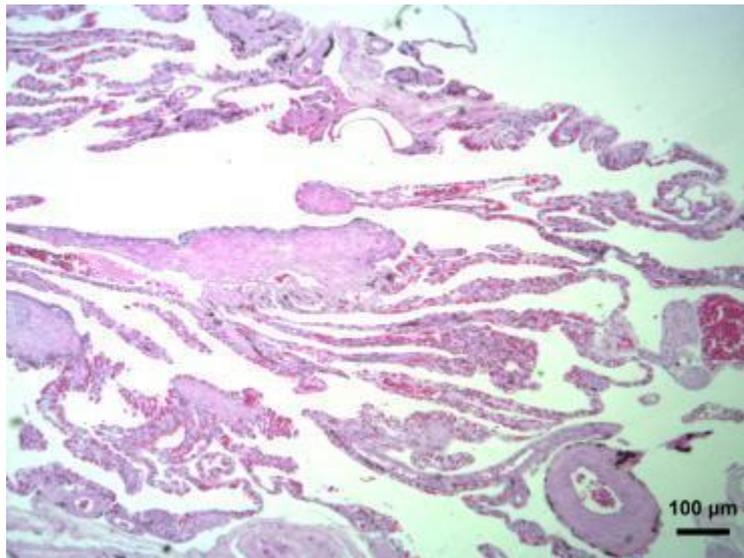


Figura 20: Congestión pulmonar, microfotografía pulmón (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa alta concentración de eritrocitos dentro de los vasos sanguíneos, 4X. (Animal 2830).

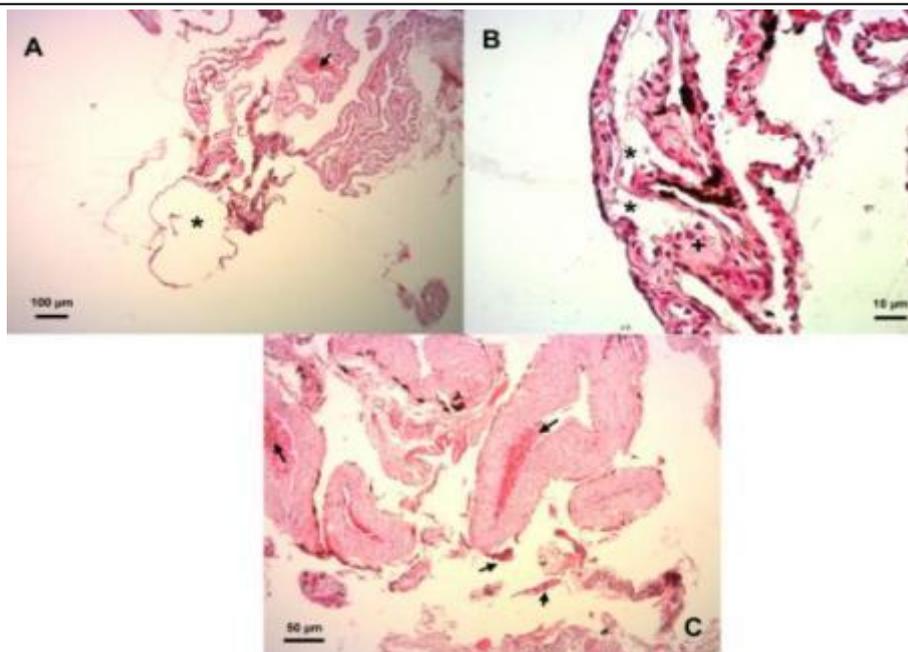


Figura 21: Alteraciones circulatorias e inflamatorias del pulmón, microfotografías pulmón (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

- A) Enfisema alveolar (*) el saco alveolar está dilatado hasta perder su continuidad, engrosamiento de la membrana basal y del tejido conectivo de los sacos alveolares y un foco de congestión bronquial (flecha), 4x.
- B) Nótese el enfisema (*) y un leve edema en el saco alveolar (+), 40x.
- C) Hemorragia bronquial (flechas), 10x.

(Animal 2855)

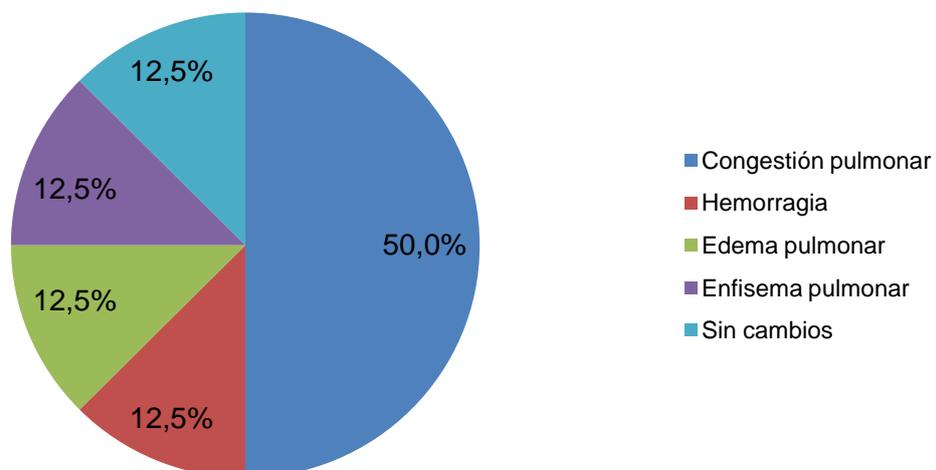


Figura 22: Principales hallazgos microscópicos a nivel pulmonar.

El hallazgo más notorio en el caso del sistema respiratorio fue la congestión pulmonar (4/8) animales, representando el 50,0% de la población total, seguida de hemorragia, edema y enfisema con un animal (1/8) o 12,5% en los tres casos y solo un animal (1/8) o 12,5% no presentó cambios.

Piel

Congestión dérmica: se observó en los animales 2607, 2815, 2855, 2992 y 3312, presentándose como focalizada o generalizada y pudiendo ser leve, moderada o severa, como describen Aughey y Frye (2011) en la histología normal de los vasos sanguíneos puede encontrarse cierta cantidad de eritrocitos, pero en el caso de los tejidos tegumentarios analizados la concentración era mayor. Ver imagen 21.

El aumento en la concentración de eritrocitos dentro de los vasos sanguíneos se debe a hiperemia o congestión, en los dos casos hay un aumento en el flujo y volumen sanguíneo asociado a la dilatación de capilares con probabilidad de extravasación de plasma, sin embargo la congestión hace referencia al estancamiento de sangre venosa, mientras la hiperemia hace referencia a sangre oxigenada (Mosier, 2012).

En el caso de la piel no se observaron cambios macroscópicos en cuanto a una coloración rojiza en la piel por lo que es probable que se trate de una congestión en donde el órgano se ve cianótico. Debido a la coloración negra de la piel de las *Atelopus* sp., es probable que este signo haya quedado enmascarado.

Hiperplasia epidérmica: se observó en el animal 2830 y 2860 una hiperplasia focalizada en el estrato córneo de carácter leve, que concuerda con lo descrito por Hargis y Ginn (2012) quienes señalan que la hiperplasia es una lesión crónica que generalmente se da en el estrato espinoso y también se la conoce como acantosis. En los primeros estadios la interfase dérmica es ondulada pero mientras progresa hay una elongación de la red de crestas que puede ser regular o irregular, lo que sugiere que los hallazgos pertenecen a una primera

fase de la patología ya que la interface dérmica se observaba ondulada y regular. Ver imagen 22.

Hiperqueratosis: en el individuo 2607 se observó aumento focalizado en el grosor de la capa de queratina de carácter moderado, además de congestión dérmica generalizada y leve. Como señalan los autores Aughey y Frye (2011) en algunas especies la hiperqueratosis o aumento de la capa de queratina está relacionada con dermatitis, además en los hallazgos microscópicos es común encontrar congestión dérmica leve junto con infiltrado inflamatorio neutrofílico. Pessier y Pinkerton (2003) señalan que la hiperqueratosis representa un hallazgo microscópico no específico, pero que puede ser una advertencia de problemas ambientales. Ver imagen 20.

Estos problemas ambientales como describen O'Rourke y Rosebaum (2015) en anfibios incluyen parasitosis como en el caso del nematodo *Pseudocapillaroides xenopi* en las que las lesiones generalmente se concentran en la piel u hongos como el *Batrachochytrium deudrobates*.

Fibrosis dérmica: en el animal 2992 se observó fibrosis focalizada de manera leve en áreas pequeñas entre las células de la dermis dando una apariencia de células más gruesas. Como describe Hargis y Ginn (2012) se desarrolla en respuesta generalmente a ulceración de la epidermis, consiste en la proliferación de fibroblastos resultando en células de colágeno menos densas.

Dermatitis: en el animal 2814 y 2815 se observó infiltrado de células inflamatorias eosinofílicas focalizado, de carácter leve. Determinando que el infiltrado observado en los tejidos corresponde a una dermatitis aguda compatible con causas parasitarias o alérgicas por las siguientes razones.

La dermatitis aguda comienza con una hiperemia activa, edema y migración de leucocitos, los neutrófilos son las primeras células en actuar a las 6 a 24 primeras horas y son reemplazados por los macrófagos, la desgranulación de mastocitos causa que los eosinófilos se acumulen en grandes cantidades

generalmente por reacciones parasitarias o reacciones alérgicas, en la dermatitis crónica histológicamente se observa presencia de macrófagos, linfocitos, destrucción de tejido y reemplazo con tejido fibroso (Hargis y Ginn, 2012).

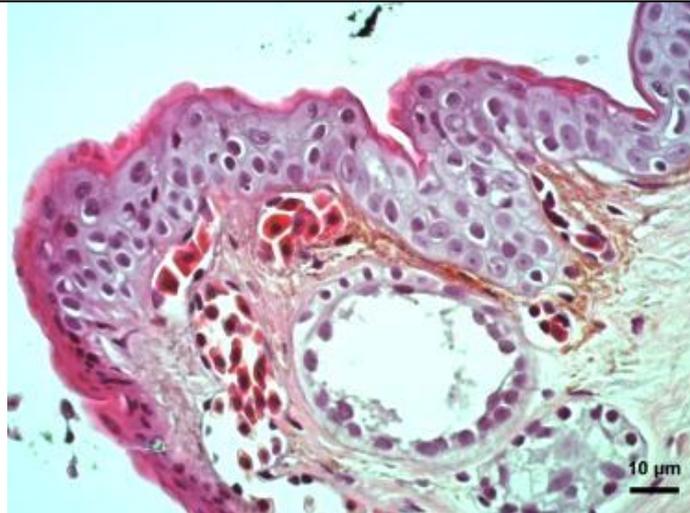


Figura 23: Hiperqueratinización, microfotografía piel (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

- a) Se observa aumento focalizado en el grosor de la capa de queratina de carácter moderado, junto con congestión leve de vasos sanguíneos, 40x. (Animal 2607)

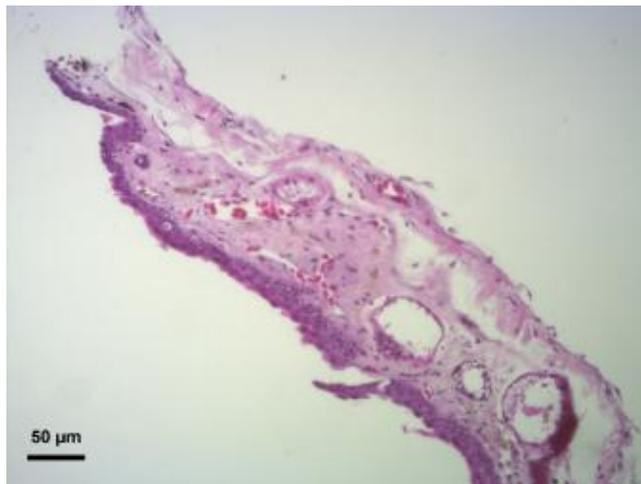


Figura 24: Congestión epitelial, microfotografía piel (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

- a) Se observa aumento en el volumen de eritrocitos dentro de los vasos sanguíneos leve generalizado, 10X. (Animal 2815).

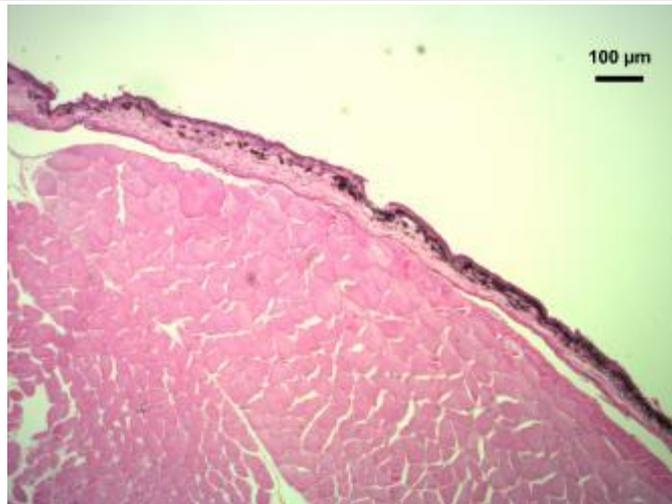


Figura 25: Hiperplasia epidérmica, microfotografía piel (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa hiperplasia e hipertrofia de células epidérmicas, 10x.
(Animal 2830).

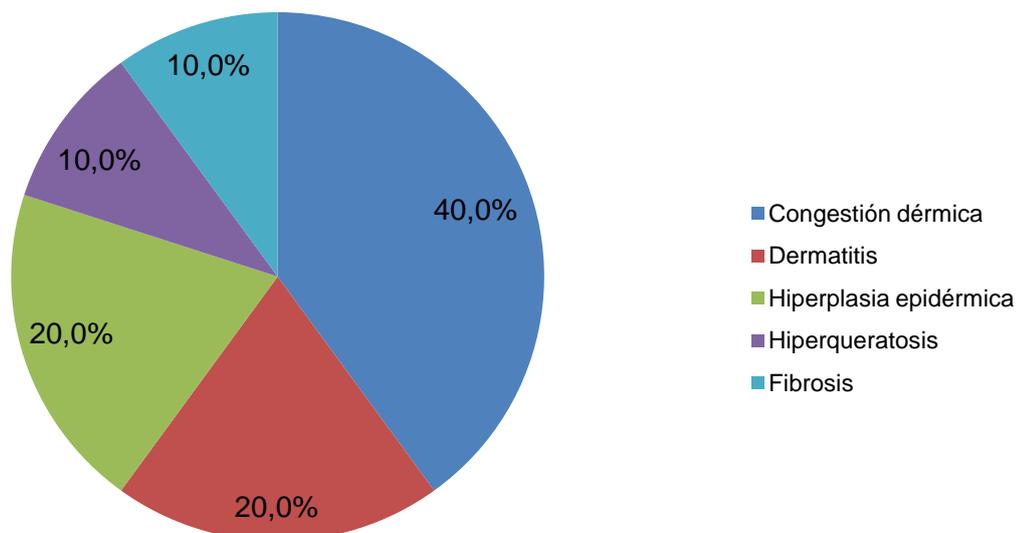


Figura 26: Principales hallazgos microscópicos a nivel tegumentario.

Para el análisis de resultados a nivel tegumentario se tomó en cuenta el número de veces que se encontró la alteración dentro del grupo de animales, teniendo una vez más a la congestión como la más frecuente 40% correspondiente a (4/8) animales, seguida de dermatitis con (2/8) animales, la

hiperplasia epidérmica con (2/8) y la hiperqueratosis y fibrosis con (1/8) respectivamente.

Hígado

Congestión hepática: se observó en el animal 2815, 2860, 3312 y 2607 congestión de focalizada a generalizada y de leve a severa. Cullen y Brown (2012) señalan que la congestión hepática generalmente se produce como consecuencia de una disfunción del corazón derecho. Microscópicamente en la congestión pasiva crónica se puede observar atrofia de hepatocitos, necrosis y los sinusoides congestionados, es frecuente encontrar esteatosis de hepatocitos y fibrosis hepática entre las venas centrales, sin embargo en los tejidos analizados únicamente se encontró congestión de los sinusoides.

Degeneración hepática: se presentó en el animal 2992 en el cual se observó degeneración grasa caracterizada por la inclusión de contenido graso dentro de los hepatocitos focal y moderada, como describe Cullen y Brown (2012) la lipidosis o esteatosis hepática ocurre cuando existe mayor cantidad de triglicéridos en hepatocitos de los que pueden ser degradados o liberados como lipoproteínas, histológicamente los lípidos hepatocelulares aparecen como vacuolas redondas y transparentes, la esteatosis macrovesicular es más frecuente y se caracteriza por largas vacuolas que desplazan el núcleo del hepatocito, puede haber esteatosis microvesicular siendo pequeñas vacuolas de diversas formas que no desplazan al núcleo y están relacionadas con una severa pérdida de función de los hepatocitos. Las principales causas incluyen una alimentación alta en grasa y toxinas. En el caso del tejido analizado se observó grandes vacuolas que desplazan al núcleo por lo que se trata de una esteatosis macrovesicular.

Hemorragia: se observó hemorragia en tres animales que se caracterizó por el aumento de eritrocitos en los canalículos vesiculares. En el caso del animal 2814 además se evidenció hemorragia multifocal en la vesícula biliar, severa y de carácter agudo. Ver imagen 25.

En el animal 2830 la hemorragia estuvo presente alrededor de los sinusoides y alrededor de la triada portal siendo generalizada, moderada y de carácter agudo, en el caso del animal 2855 se presentó alrededor de los sinusoides siendo multifocal, severa y de carácter agudo. Según Mosier (2012) la hemorragia puede ocurrir por una función o integridad anormal del endotelio y vasos sanguíneos, plaquetas y factores de coagulación, puede ocurrir por reacciones inflamatorias o neoplasias invasivas y deficiencia de vitamina K. En la mayoría de casos las hemorragias son locales y rápidamente detenidas por procesos hemostáticos que reparan el vaso dañado, en estos casos histológicamente se observa focos de eritrocitos en el tejido. Ver imagen 23.

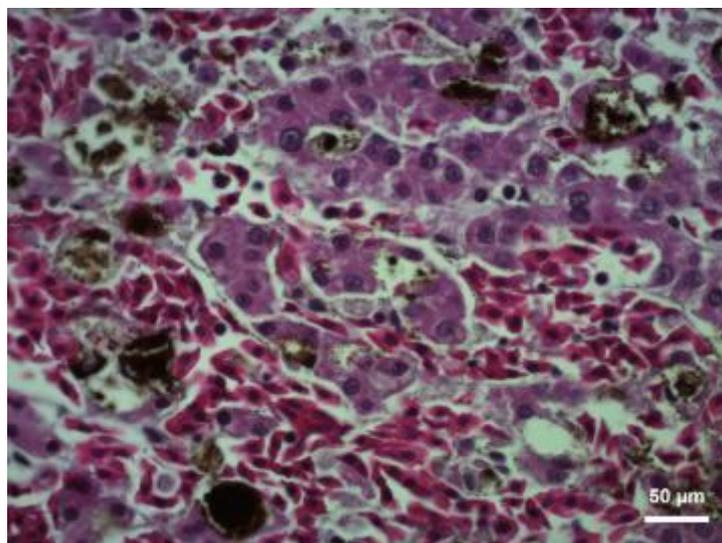


Figura 27: Hemorragia hepática, microfotografía hígado (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa presencia de eritrocitos alrededor de los sinusoides hepáticos de carácter leve y focalizado, 40X. (Animal 2815).

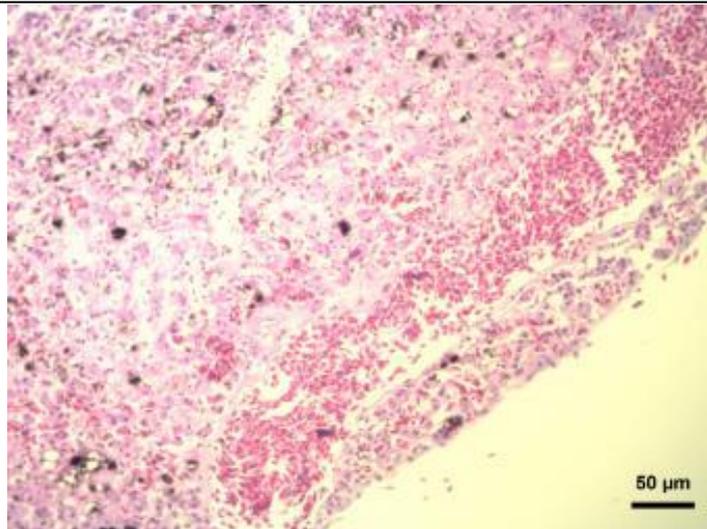


Figura 28: Hemorragia hepática, microfotografía hígado (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa un área hemorrágica eritrocitaria extensa de carácter severo y focalizado, 10X. (Animal 2830).

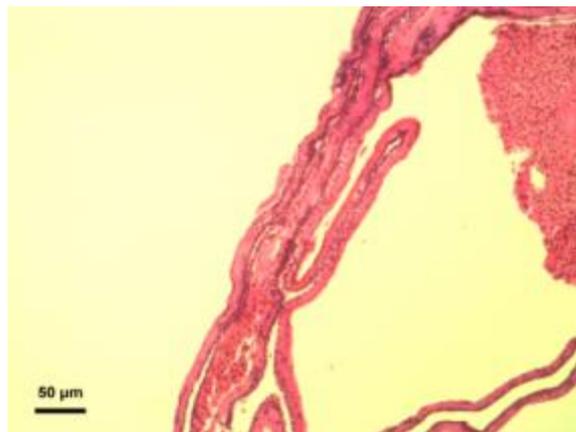
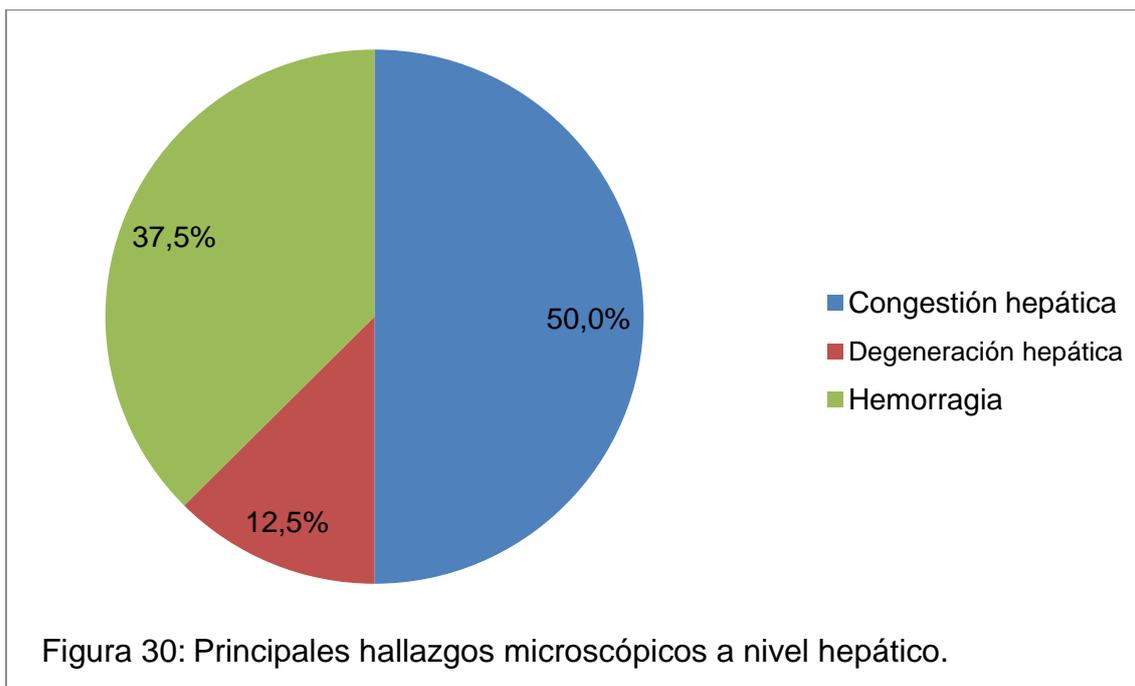


Figura 29: Hemorragia severa, microfotografía vesícula biliar (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observan focos hemorrágicos de carácter severo, 10x. (Animal 2814)



En el hígado el hallazgo más frecuente fue congestión hepática con el 50% de la población (4/8), seguida de hemorragia 37,5% (3/8) y por último degeneración hepática 12,5% (1/8).

Riñón

Quiste renal: en el animal 2607 se observó disrupción del tejido en la médula renal por espacios quísticos de diversos tamaños. Newman (2012) señala que los quistes renales son esféricos de paredes delgadas con diferentes tamaños de distensión de los túbulos renales de la médula o corteza y llenos de líquido acuoso transparente. Los quistes generalmente se derivan de segmentos normales de la nefrona comúnmente de los túbulos contorneados, colectores o de la cápsula de bowman. Pueden estar causados por obstrucción de nefronas, debilitamiento de la membrana basal de los túbulos, hiperplasia focal del epitelio tubular, o pérdida de la polaridad de las células tubulares, cuando zonas extensas del parénquima presentan múltiples quistes la función renal puede verse comprometida, en este caso se podría decir que la función no se encontraba comprometida ya que únicamente se observaron tres dilataciones quísticas. Ver imagen 27.

Fibrosis: se observó en el animal 2855 y 2992 presencia moderada de tejido fibroso focalizado próximo a los glomérulos en la corteza renal y en el animal 2607 el tejido fibroso se encuentra en los túbulos colectores. Newman (2012) señala que la fibrosis es el remplazo del parénquima renal por tejido fibroso, generalmente es la respuesta a una lesión primaria y ocurre como una fase de reparación. Microscópicamente se caracteriza por el incremento de tejido conectivo intersticial y la ausencia de túbulos renales, los túbulos que aún permanecen pueden encontrarse atróficos o con estenosis de la luz del órgano, además puede presentarse junto con quistes renales e inclusive en lesiones no infecciosas se pueden identificar linfocitos y células plasmáticas. En los tejidos analizados en el animal 2607 la fibrosis estuvo acompañada de ausencia de túbulos en el área de la lesión junto con de la presencia de quistes renales y en los otros casos solo hubo ausencia de túbulos en la zona de fibrosis. Ver imagen 28.

Congestión: los animales 2607, 3312, 2855, 2830 y 2815 presentaron congestión generalizada o multifocal en los glomérulos todas de carácter moderado, como ya se ha descrito anteriormente según Newman (2012) es un problema vascular en donde microscópicamente los vasos sanguíneos se observan distendidos y llenos de sangre.

Glomerulonefritis: en el animal 2855 se observó aumento de células intersticiales y presencia leve de tejido fibroso en la membrana basal de los capilares además de infiltrado inflamatorio linfocítico y degeneración tubular, en los animales 2860 y 2814 hubo aumento únicamente de células intersticiales y en el animal 3312 se observó presencia de tejido fibroso en la membrana basal de los capilares. Como describe Trigo (2011) la glomerulonefritis involucra cambios vasculares y túbulo-intersticiales secundarios a enfermedad glomerular primaria y se relacionan con mecanismos de respuesta inmunológica. Se clasifica en proliferativa cuando aumenta la cantidad de células del glomérulo con presencia de leucocitos, la membranosa cuando hay engrosamiento difuso de la membrana basal de los capilares y la membranoproliferativa la cual es una unión de las dos e implica el aumento del

número de células y el engrosamiento de la membrana basal capilar. Las lesiones observadas en este estudio son compatibles con los tres tipos de glomerulonefritis, siendo el animal 2855 una glomerulonefritis membranoproliferativa, en el 2860 y 2814 una proliferativa y en la 3312 una membranosa, en todos los casos hubo reducción del espacio capsular. Ver imagen 28.

Hemorragia: en los animales 3312, 2814, 2830 y 2815 se presentó hemorragia en la corteza renal de focalizada a multifocal, de moderada a leve y de carácter agudo. Como describe Newman (2012) puede deberse directamente a traumas, desórdenes hemorrágicos sistémicos, septicemia, vasculitis o a coagulación intravascular diseminada y se caracteriza por el escape de eritrocitos y otras células sanguíneas a través de los vasos y capilares, en estos tejidos únicamente se logró observar eritrocitos por lo que se la caracterizó como una hemorragia aguda.

Lipoma: el animal 2992 presentó un nódulo renal, según lo descrito por Kusewitt (2012) se puede determinar la malignidad de un tumor de origen adiposo mediante el análisis microscópico en donde un lipoma se observará compuesto por células maduras de grasa y no se distinguen células normales, mientras que un liposarcoma tiene poca diferenciación celular y muchas de estas células no tienen características morfológicas de adipocitos. El nódulo del estudio se caracterizó como un lipoma que podría estar evolucionando en un liposarcoma ya que en el extremo derecho de la placa se observa tejido adiposo con poca diferenciación celular. Ver imagen 26.

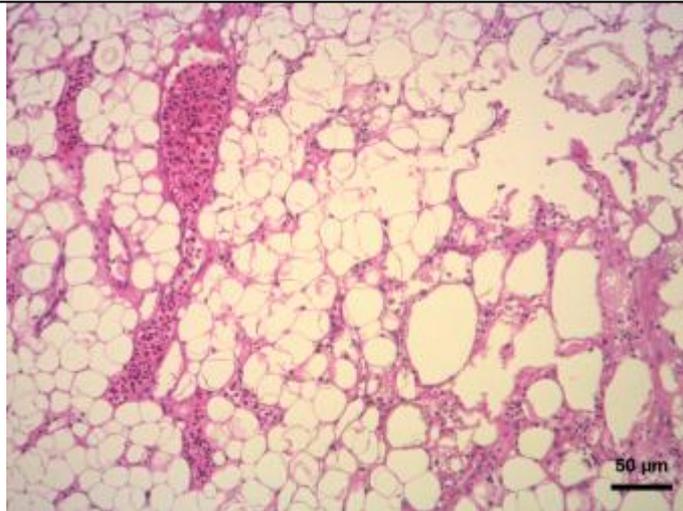


Figura 31: Lipoma hepático, microfotografía hígado (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa células maduras de adipocitos compatible con lipoma y una zona de transición con poca diferenciación celular compatible con liposarcoma, 10x. (Animal 2992).

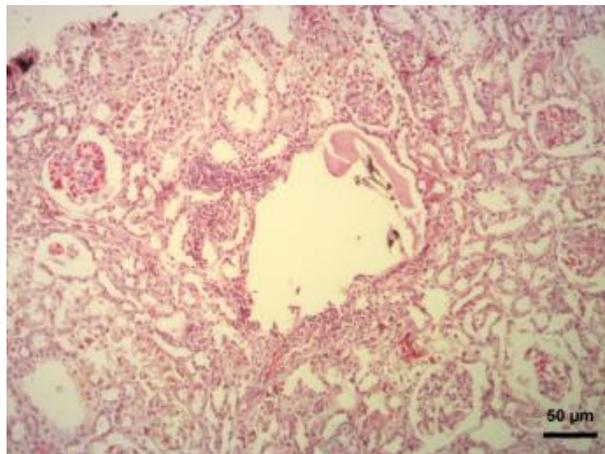


Figura 32: Quiste renal, microfotografía riñón (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa la disrupción de la continuidad del tejido por dilatación quística, 10x. (Animal 2607).

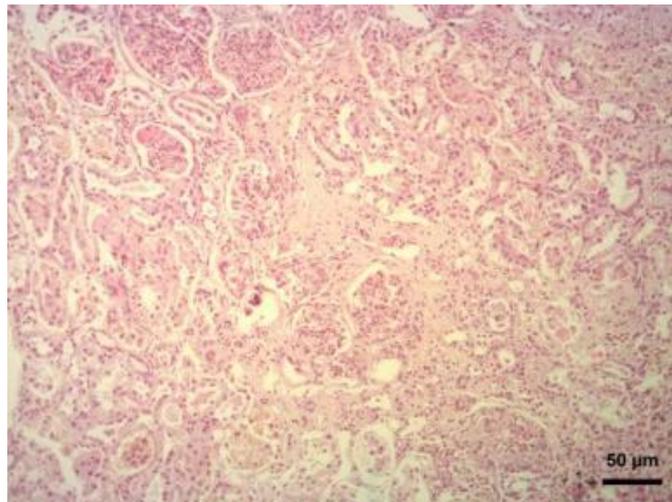


Figura 33: Alteraciones renales, microfotografía de riñón (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Notable fibrosis intersticial crónica en conjunto con infiltrado linfocítico multifocal en corteza renal, glomerulonefritis membranoproliferativa multifocal y degeneración tubular generalizada, 10X. (Animal 2855).

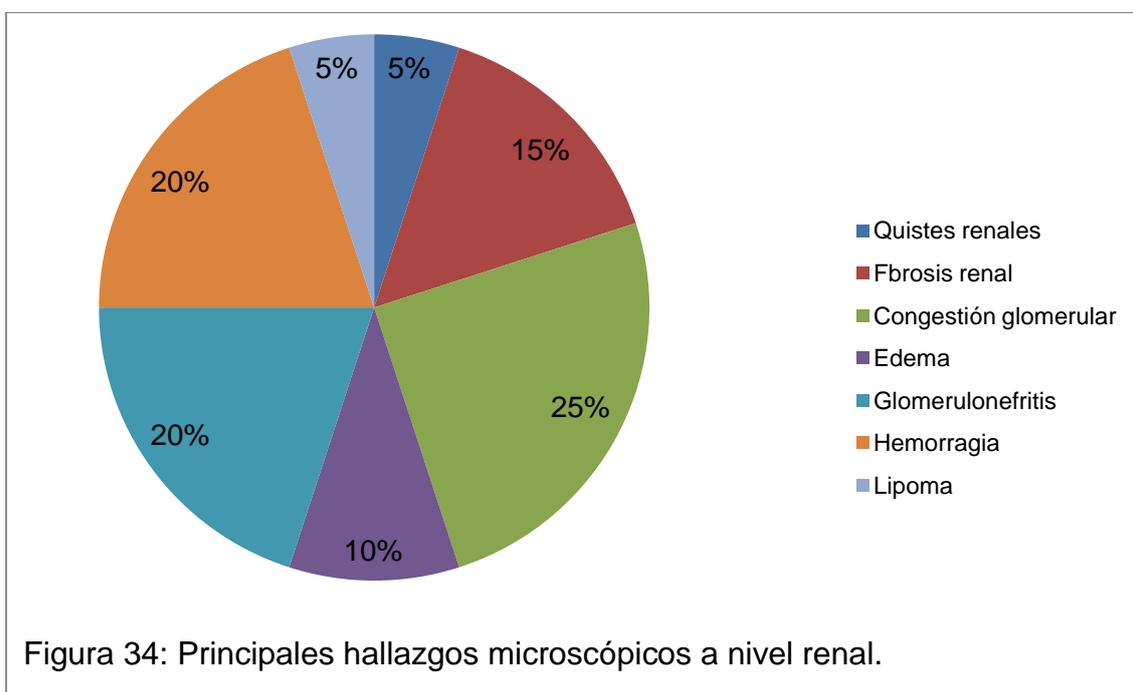


Figura 34: Principales hallazgos microscópicos a nivel renal.

En este gráfico los porcentajes no reflejan la población de individuos afectados en cada lesión, sino el número de veces que la lesión se repitió entre los individuos, es decir, el porcentaje corresponde a la frecuencia de la lesión

dentro del grupo, siendo la más frecuente la congestión glomerular 25% (5/8), seguida de la glomerulonefritis 20% (4/8) y la hemorragia 20% (4/8).

Bazo

En tres animales (3/8) o en el 37,5% de la población, se observó leve depleción de la pulpa blanca focalizada generalmente alrededor de la arteria central en los animales 2830, 2860 y 2992 y en el 62,5% restante no se observaron cambios. Como presentan los autores Frith, Ward, Chandra y Losco (2000) la depleción linfoidea o atrofia de la pulpa blanca se observa como una secuela a cualquier enfermedad de causas tóxicas, también puede observarse como un hallazgo espontáneo en animales de edad avanzada e infecciones virales, en donde al igual que los tejidos analizados se observa disminución de la extensión de la pulpa blanca correspondientes a zonas de linfocitos T y B. Ver imagen 29.

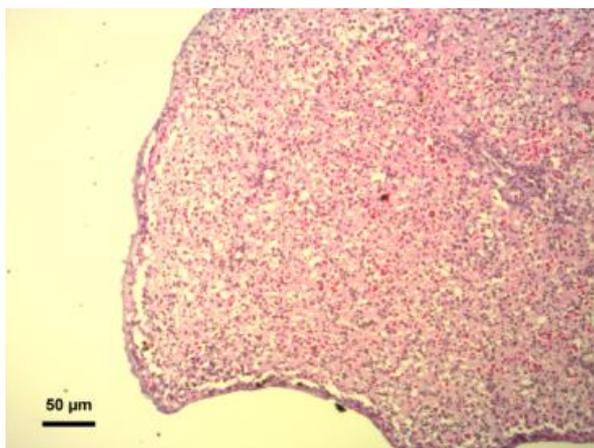


Figura 35: Depleción linfoidea, microfotografía de bazo (H&E).

Tomado de (Genoy-Puerto, 2016)

a) Se observa depleción moderada de pulpa blanca generalizada, 10X.

(Animal 2855)

Sistema reproductor

En el sistema reproductor, al igual que en los órganos anteriormente citados, se encontró congestión en ovario en los animales 2814, 2815 y 2860 correspondientes a la mitad de la población de hembras muestreadas (3/6) o al

50% de hembras y congestión testicular en el macho 2855 (1/2) o en el 50% de machos.

Después de analizar los resultados macroscópicos y microscópicos la mayoría de alteraciones y lesiones tienen un origen vascular, microscópicamente la mayoría de sistemas presentaron altos valores en congestión y hemorragia y en menor cantidad infiltrado inflamatorio eosinofílico como lesiones agudas y dentro de las lesiones crónicas se encontró con mayor frecuencia fibrosis y edema.

Como señala Cheville (1998) los hallazgos macroscópicos más frecuentes en edema son órganos húmedos, pesados y gelatinosos, que posiblemente por el pequeño tamaño de los órganos de los animales dentro del estudio, pasaron desapercibidos, sin embargo los hallazgos macroscópicos que en la investigación se encontraron con más frecuencia fueron cambios en la coloración del órgano. Microscópicamente el mismo autor señala que lo más común es encontrar espacios tisulares distendidos por líquido eosinofílico, hiperemia y vasos linfáticos distendidos, concordantes con los hallazgos del estudio.

En cualquier especie la acumulación de líquido en la cavidad peritoneal se conoce como ascitis, como señala Cheville (1998) en este participan la retención de iones de sodio y agua, la hipoalbuminemia, la presión osmótica coloidal disminuida y aumento de la presión hidrostática. Como describe Mosier (2012) la ascitis generalmente no tiene impacto en la funcionalidad de los órganos ya que se da en un espacio amplio, pero cuando el edema se encuentra en pequeñas cavidades como el tórax si tiene un impacto sustancial en la función orgánica y puede llegar a ser mortal. Es importante recordar que los anfibios no poseen diafragma, es decir, no tienen división entre tórax y abdomen por lo que la presentación de síndrome de edema en la cavidad celómica en grandes cantidades es mortal, adicionalmente a través de esta investigación se determinó que si existen alteraciones morfológicas debidas al

síndrome y que en casos como riñón, hígado y corazón la naturaleza de estos hallazgos es indicativo de que el síndrome si afecta su función.

5. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El síndrome de edema en *Atelopus* sp. es una enfermedad vascular, que microscópicamente se caracterizó por alteraciones debidas al debilitamiento y aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos como congestión, hemorragia y edema.

Los datos ambiental no demostraron grandes alteraciones en la calidad del manejo, sin embargo estos datos fueron registrados en diferentes días y a diferentes horas por lo que no resultan confiables.

El examen físico de los animales previo a la necropsia fue concluyente del grado y presencia de síndrome de edema.

Los principales cambios microscópicos se concentran en órganos que reciben gran volumen sanguíneo y son órganos de filtración y excreción siendo principalmente el caso del riñón donde se encontró con frecuencia congestión glomerular, hemorragia en corteza, glomerulonefritis y dilataciones quísticas.

A la necropsia fue común el cambio en la coloración de hígado, riñón, vesícula y corazón debido a la alteración de los vasos sanguíneos.

5.2 Recomendaciones

Estudios posteriores serán fundamentales donde se utilice un número mayor de animales, para que los porcentajes de frecuencia de alteraciones se acerquen más a la realidad de la población total.

Se recomienda que antes de la necropsia se haga un análisis bioquímico para la detección de proteínas y densidad del líquido en la cavidad celómica, además en el caso de encontrar que es un líquido de alto contenido proteico se

recomienda hacer cultivos o pruebas que permitan llegar a la confirmación del patógeno.

Se recomienda en el proceso de necropsia y toma de muestras el uso del estereoscopio, ya que por el pequeño tamaño de los órganos de esta especie muchos hallazgos macroscópicos pasan desapercibidos.

Es importante que en posteriores estudios se considere la histopatología de linfonódulos para analizar la posibilidad de una falla linfática en la causa de la presentación de síndrome de edema.

Los animales no tienen contacto directo entre ellos por lo que es poco probable que se trate de agentes infecciosos, se puede sospechar como causas la desnutrición o mala calidad de agua o puede deberse algún factor ambiental que esté ocasionando en los animales una reacción alérgica sistémica.

Se recomienda la evaluación de las características del agua y determinación de la calidad nutricional del alimento en relación con el requerimiento de la especie.

Se recomienda que en la lectura de placas se utilice siempre un atlas de histopatología como guía y apoyo en el diagnóstico de alteraciones histológicas.

REFERENCIAS

- Aguilar, R., Hernández, S., Divers, S. y Perpiñán, D. (2010). Atlas de Medicina de Animales Exóticos. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.
- Aughey E. y Frye, F. (2011). Comparative veterinary histology with clinical correlates. Londres, Inglaterra: Manson Publishing.
- Cullen, J. y Brown D. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (Hepatobiliary system and exocrine pancreas). St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Frith, C., Ward, J., Chandra, M. y Losco P. (2000). Non-proliferative lesions of the hematopoietic system in rats. Washington, D. C.: Guides for Toxicologic Pathology.
- Hargis, A. y Ginn, P. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (The Integument). St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Kusewitt, D. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (Neoplasia and tumor biology). St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- López, A. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (Respiratory system), St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Meredith, A. y Redrobe S. (2007). Manual de Animales Exóticos. Barcelona, España: Ediciones S.
- Miller, L., Van, J. y Gal, A. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (Cardiovascular system and lymphatic vessels). St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Mosier, D. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (Vascular disorders and thrombosis), St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Murray, K., Skerratt, L., Marantelli, G., Berger, L., Hunter, D., Mahony, M. y Hines, H. (2011). Guidelines for minimising disease risks associated with captive breeding, raising and restocking programs for Australian frogs. Sidney, Australia: Gobierno Australiano, departamento de sustentabilidad, ambiente, agua, población y comunidades.
- Newman, S. (2012). Pathologic basis of veterinary disease (The Urinary system). St. Louis, Estados Unidos: ELSEVIER.

- O'Rourke, D. y Rosenbaum, M. (2015). *Laboratory Animal Medicine. Biology and Diseases of Amphibians*. Boston, Estados Unidos: Academic Press.
- Ortiz, E. (2010). *Conflicto ser humano – anfibios amenazados*. Cuenca, Ecuador: Asociación Ecuatoriana de Zoológicos y Acuarios.
- Peña, P. (2010). *El arlequín de limón: una joya en extinción*. Quito, Ecuador: Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales Sede Ecuador.
- Pessier, A. y Pinkerton M. (2003). *Necropsia practica de anfibios*. California, Estados Unidos: Elsevier.
- Poole, V y Grow, S. (2008). *Guía para el manejo de anfibios en cautiverio*. México D.F., México: Grupo Consultivo de Anfibios de la Asociación de Zoológicos y Acuarios.
- Pough, F. (2007). *Amphibian Biology and Husbandry*. Maryland, Estados Unidos: University of Maryland Center for Environmental Science.
- Rodríguez, E. (2005). *Metodología de la investigación*. Tabasco, México: Universidad Juárez, autónoma de Tabasco.
- Ron, R., Guayasamin, J., Yanez-Muñoz, H., Merino-Viteri, A., Ortiz, A. y Nicolalde, A. (2014). Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado el 22 de octubre del 2015 de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios>
- Secretaria nacional de planificación y desarrollo. (2013). *Plan nacional para el buen vivir*. Quito, Ecuador: SENPLADES.
- Trigo, F. (2011). *Patología sistémica veterinaria*. México D.F., México: McGraw-Hill Interamericana.
- Universidad de las Américas. (2015). *Plan estratégico 2015-2019*. Quito, Ecuador: Universidad de las Américas.
- Vaughan, R., Vitali, S., Payne, K. y Eden, P. (2006). *Un esplendido sapo arborícola con síndrome de Edema y Adenocarcinoma intestinal*. South Perth, Australia: Elsevier.
- Wells, K. (2007). *The Ecology and Behavior of Amphibians*. Chicago. Estados Unidos: The University of Chicago Press.
- Wiechmann, A. y Wirsig, C. (2003). *Color Atlas of Xenopus laevis Histology*. Nueva York, Estados Unidos: Springer US.

Wright, K. (2006). *Procedimientos de la conferencia norteamericana de veterinarios*. Orlando, Florida: NAVC

ANEXOS

Anexo 1: Lista de materiales

Indumentaria

- Guantes.
- Mandil.
- Mascarillas.

Suministros de oficina

- Bolígrafo.
- Lápiz de punta gruesa.

Reactivos

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

Fármacos

- Lidocaína.
- Epinefrina.

Instrumental

- Canaleta.
- Hojas de bisturí numero 10.
- Mangos de bisturí numero tres.
- Pinza anatómica con diente.
- Pinza anatómica sin diente.
- Tabla blanca de plástico para cortar.
- Tijera de Mayo.

Físicos

- 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.
- Jeringas de tres y cinco mililitros.

- Toallas de papel.

Equipos

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

Biológicos

- Animales (*Atelopus* sp.)

Anexo 2: Ficha de necropsia

Número de ficha: _____



INFORME DE NECROPSIA.

Identificación: _____ No. Terrario: _____

Fecha de muerte: _____
Fecha de necropsia: _____
Nombre común: _____
Especie: _____ Orden/Familia: _____
Genero (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 hemolinfático:

Sistema respiratorio:

Sistema digestivo:

Sistema urinario:

Sistema neurológico:

Órganos de los sentidos:

Muestras para histopatología:

Muestras para otros estudios:

Diagnósticos morfológicos:

Comentarios adicionales:

Responsable: _____ Disposición del cadáver: _____