



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE ÓRGANOS DEL TRACTO
GASTROINTESTINAL EN RANAS DE LA ESPECIE *Gastrotheca* spp.
AFECTADAS POR EL SÍNDROME DE EDEMA DENTRO DEL CENTRO
BALSA DE LOS SAPOS

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

Profesor guía

MV. MSc. PhD. Alexander Genoy-Puerto

Autora

Paola Carolina Cando Chicaiza

Año

2017

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.”

Elmer Alexander Genoy-Puerto

MV. MSc. PhD.

C.I. 1757589278

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los trabajos de titulación”

Dr. Carlos Alfonso Paz Zurita

C.I. 1702531748

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

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

Paola Carolina Cando Chicaiza

C.I. 1725212623

AGRADECIMIENTOS

A Dios principalmente, a mis padres, hermanos, al doctor Alexander Genoy por haber aportado con sus conocimientos y experiencia para la culminación de esta investigación.

Al biólogo Andrés Merino-Viteri y todo el personal que conforma el Centro de Investigación y Conservación Balsa de los sapos por el apoyo logístico brindado.

A la doctora Maira Rojas Carrillo y al personal en general que conforman la coordinación de laboratorios de la Universidad de Las Américas.

DEDICATORIA

A Dios por haber llegado en el momento adecuado a mi vida y darme la fortaleza para seguir luchando por mis sueños.

A mi padre Fernando y mi madre Alicia por creer mí, por su apoyo incondicional, por darme más de lo que yo merecía. A mis hermanos Santiago y María porque han estado ahí en los malos y buenos momentos sin pedir nada a cambio.

A mi mejor amigo, colega y novio, Santiago, por motivarme a no rendirme.

A mis primas Mayte y M. Isabel por acompañarme en todo el camino, por ser incondicionales, y a mis verdaderos amigos.

RESUMEN

Un problema frecuente en poblaciones en cautiverio a nivel mundial es la presentación de diferentes trastornos que ponen en riesgo su estado de conservación. La institución Balsa de los Sapos, perteneciente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, no se excluye de esta problemática, en donde se presenta el Síndrome de Edema, que afecta a anfibios del género *Gastrotheca* spp., que son ranas marsupiales endémicas ecuatorianas que constan actualmente en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) como especies en peligro (UICN, 2017). La investigación contó con un total de 10 individuos de la especie *Gastrotheca litonedis* (n=3), *Gastrotheca pseustes* (n=3) y *Gastrotheca riobambae* (n=4) afectados por el Síndrome. El objetivo central de la investigación fue la caracterización histopatológica de órganos del tracto gastrointestinal en los que se incluyeron lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y páncreas. Como segundo punto se procedió a identificar sus respectivas lesiones primarias y secundarias. La lectura histopatológica se realizó con placas histológicas previamente procesadas, de todos los órganos mencionados anteriormente en el Laboratorio de Histopatología de la Universidad de Las Américas. Las lesiones primarias determinaron los principales diagnósticos y estos fueron: enteritis 60% (6/10), glositis 10%(1/10) y pancreatitis 60% (6/10). Las lesiones secundarias se caracterizaron por ser procesos leves, focales, de tipo vascular e inflamatorio y por encontrarse en todos los órganos. Un hallazgo relevante fue la existencia de parásitos en los que se incluyeron *Strongyloides* sp, *Oxyuris* sp, protozoario ciliado y *Protoopalina* sp., que son géneros no reportados en cuanto a histopatología en individuos de la familia *Hemiphractidae* en el Ecuador. Con el análisis final de estos órganos se amplía y complementa el conocimiento en cuanto a esta patología, además se motiva a que se desarrollen nuevos estudios con una mayor profundización.

ABSTRACT

A frequent problem in populations in captivity worldwide is the presentation of different disorders that put their conservation status at risk. The institution "Balsa de los Sapos", belonging to the "Pontificia Universidad Católica del Ecuador", is not excluded from this problem, where the Edema Syndrome is present and affect amphibians of the genus *Gastrotheca* spp., which are marsupial frogs endemic species currently on the IUCN Red List of Endangered Species as endangered Species (IUCN, 2017). The study had a total of 10 individuals of the species *Gastrotheca litonedis* (n = 3), *Gastrotheca pseustes* (n = 3) and *Gastrotheca riobambae* (n = 4) affected by the Syndrome. The main objective of the investigation was the histopathological characterization of organs of the gastrointestinal tract in which the tongue, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, and pancreas were included. As a second point, we proceeded to identify their respective primary and secondary lesions. The histopathological reading was performed with histological plates previously processed from all the previously mentioned organs in the Laboratory of Histopathology of the "Universidad de Las Américas". Primary lesions determined the main diagnoses and were: enteritis 60% (6/10), glossitis 10% (1/10) and pancreatitis 60% (6/10). Secondary lesions were characterized as mild, focal, vascular, and inflammatory processes and were found in all organs. A relevant finding was the existence of parasites such as *Strongyloides* sp, *Oxyuris* sp, ciliated protozoan and *Protoopalina* sp. that have not been reported histopathologically on individuals of the *Hemiphractidae* family in Ecuador. With the final analysis of these organs it expands and complements the knowledge regarding this pathology, in addition it is motivated to develop new studies with a greater depth.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos.....	3
1.1.1 Objetivo general.....	3
1.1.2 Objetivos específicos.....	3
2 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Clasificación taxonómica.....	4
2.2 Características de individuos del género <i>Gastrotheca</i> spp. ...	5
2.2.1 <i>Gastrotheca litonedis</i>	5
2.2.2 <i>Gastrotheca pseustes</i>	6
2.2.3 <i>Gastrotheca riobambae</i>	6
2.3 Conservación <i>ex situ</i>	7
2.3.1 Alimentación y nutrición en anfibios.....	7
2.4 Sistema digestivo en anfibios.....	9
2.4.1 Anatomía y fisiología.....	9
2.4.1.1 Cavidad oral.....	9
2.4.1.2 Esófago.....	10
2.4.1.3 Estómago.....	10
2.4.1.4 Intestino delgado.....	10
2.4.1.5 Intestino grueso.....	11
2.4.1.6 Hígado y vesícula biliar.....	11
2.4.1.7 Páncreas.....	11
2.4.2 Histología.....	12

2.5	Síndrome de Edema.....	13
2.5.1	Causas	13
2.5.2	Pruebas diagnósticas	13
2.5.3	Tratamiento	15
3	CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1	Ubicación.....	17
3.2	Población y muestra	17
3.3	Materiales.....	17
3.3.1	Materiales para la caracterización histopatológica	17
3.4	Metodología	18
3.4.1	Procesamiento de las muestras.....	18
3.4.2	Lectura de placas histológicas.....	18
3.4.3	Análisis de los datos	19
3.5	Diseño experimental	19
3.5.1	Hipótesis	19
3.5.2	Diseño experimental.....	19
3.5.3	Análisis estadístico	20
4	CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1	Hallazgos histopatológicos.....	21
4.1.1	Lesiones primarias.....	21
4.1.1.1	Glositis	22
4.1.1.2	Enteritis	24
4.1.1.3	Pancreatitis	36
4.1.2	Lesiones secundarias	39
4.2	Limitantes	41

5	CAPÍTULO	V:	CONCLUSIONES	Y
	RECOMENDACIONES		42
5.1	Conclusiones		42
5.2	Recomendaciones		43
	REFERENCIAS		44
	ANEXOS		51

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Ecuador es un país megadiverso, puesto que alberga a la tercera población de anfibios más numerosa a nivel mundial, con un total de 587 especies descritas hasta marzo del 2017 (Ron, Guayasamin, Yanez-Muñoz, Merino-Viteri y Nicolalde, 2017). Actualmente la población en general de anfibios está en declive y en el Ecuador, especialmente desde los años ochenta, se han registrado disminuciones y extinciones significativas, este problema ha aumentado de manera crítica, no pudiéndose estimar con exactitud cuántas especies están en peligro (Cano y Rodríguez, 2008). Entre las principales causas para la disminución de las poblaciones se encuentran: la fragmentación y la pérdida del hábitat, cambio climático global y enfermedades infecciosas (Cano y Rodríguez, 2008). La conservación *ex situ* es una herramienta de alto valor para la realidad que vive la anfibiofauna ecuatoriana, especialmente para colonias viables ya que permite mantener opciones de reintroducción (Cano y Rodríguez, 2008). Sin embargo, esta es una herramienta complementaria que requiere un trabajo exhaustivo y multidisciplinario para obtener excelentes resultados a largo plazo (Cano y Rodríguez, 2008). El Centro de Investigación y Conservación Balsa de los Sapos, perteneciente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, mantiene en cría *ex situ* diversas especies de anfibios en las que se incluyen *Gastrotheca litonedis*, *Gastrotheca pseustes* y *Gastrotheca riobambae*, que son ranas marsupiales endémicas de Ecuador. Estas constan actualmente en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la (UICN) como especies en peligro (UICN, 2017).

Un problema muy frecuente en poblaciones en cautiverio a nivel mundial es la presentación de diferentes trastornos que ponen en riesgo su estado de conservación. Esta problemática no es ajena a la Balsa de los Sapos, ya que con cierta regularidad ocurre la muerte de individuos del género *Gastrotheca* spp., en los cuales se ha descrito una acumulación anormal de líquido en diferentes porciones del cuerpo acompañado de otros trastornos sistémicos. Esta patología es denominada Síndrome de Edema, el cual se caracteriza por

una acumulación anormal de líquido en cavidades corporales y sacos linfáticos subcutáneos (Vaughan, Vitali, Payne y Eden, 2006). Entre sus factores desencadenantes se incluyen enfermedad renal, enfermedad de la piel, alteraciones cardiovasculares y linfáticas, afecciones gastrointestinales y factores ambientales (Clayton, 2010). Entre las pruebas de diagnóstico utilizadas para esta alteración se encuentran el aspirado de líquido, radiografías, ultrasonidos, raspados de piel, necropsias con histopatología y otras pruebas complementarias (Clayton, 2010).

A pesar de que ya se ha realizado estudios en anfibios que demuestran alteraciones en piel, corazón, hígado, riñones, hueso, pulmón, bazo y órganos reproductores (Pessier, 2009; Quishpe 2016), todavía no es clara la existencia de alteraciones microscópicas a nivel de tracto gastrointestinal, pese a que una de las causas ligadas para la presentación de edema también se encuentra a nivel gastrointestinal tales como parasitismos extremos (Pessier, 2009). Por lo cual, el principal objetivo de la investigación es mediante la caracterización histopatológica determinar la presencia de diferentes alteraciones, ya sean primarias o secundarias, a nivel de órganos de tracto gastrointestinal. De esta manera se caracterizarán en casi su totalidad los tejidos de animales afectados por esta patología, generando un mayor entendimiento en cuanto al comportamiento de la misma.

Esta investigación es un complemento y continuación del estudio realizado por Quishpe (2016) y a su vez, se encuentra incluida en el proyecto denominado "Patología comparada de procesos no infecciosos e infecciosos de anfibios ecuatorianos en cautiverio", que es parte de la alianza estratégica entre la Universidad de Las Américas y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. El presente estudio fortalecerá a la Universidad de Las Américas como una entidad de referencia para el diagnóstico de enfermedades en diferentes especies silvestres de anfibios ecuatorianos que se encuentran en peligro de extinción.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Describir los hallazgos histopatológicos encontrados en los diferentes órganos del tracto gastrointestinal en ranas de la especie *Gastrotheca* spp. afectadas por el Síndrome de Edema en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios Balsa de los Sapos.

1.1.2 Objetivos específicos

Evaluar histopatológicamente las alteraciones presentes en los diferentes órganos del tracto gastrointestinal, en muestras tomadas de individuos del género *Gastrotheca* spp. afectados por el Síndrome de Edema.

Identificar lesiones histopatológicas primarias y secundarias de acuerdo a su extensión, severidad y cronicidad en los diferentes órganos de estudio del tracto gastrointestinal.

2 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Clasificación taxonómica

La clase *Amphibia* incluye un grupo diverso de tetrápodos que abarca más de 5500 especies (Aguilar, Hernández, Divers y Perpiñán, 2010). Los individuos pertenecientes a esta clase se han dividido en tres grandes grupos que difieren en cuanto a su morfología. El primero es el orden Anura, en él se incluyen ranas y sapos; el segundo el orden Urodela, en el que se encuentran las salamandras y tritones; y por último el orden Gymnophiona, al que pertenecen las cecilias (Wells, 2007).

El orden Anura es el grupo más diverso y conocido a nivel mundial, este comprende a su vez alrededor de más de 30 familias con 350 géneros y 5300 especies (Aguilar et al., 2010). Estos anfibios carecen de cola en su estadio adulto, tienen extremidades posteriores largas y musculosas en comparación con las delanteras; esto se debe a que estas son utilizadas exclusivamente para el salto, y poseen una columna vertebral aparentemente reducida (Aguilar et al., 2010; Barahona, Betancourt, Morales, Toral y Valencia, 2008; Wells, 2007).

En el orden Anura se incluyen los sapos marsupiales pertenecientes a la familia *Hemiphractidae*, que se caracterizan porque poseen un tipo de cavidad cutánea a nivel dorsal, donde se produce el desarrollo de sus huevos. En algunos casos los huevos eclosionan y completan su ciclo de desarrollo en el agua, mientras que, en otros, los huevos eclosionan cuando ya los individuos se encuentran completamente desarrollados (Acevedo, Silva, Franco y Lizcano, 2011; Duellman, Maxson y Jesiolowski, 1988). A esta familia pertenece el género *Gastrotheca*, que consta de un gran número de especies que se encuentran distribuidos en Suramérica y Centroamérica (Acevedo et al., 2011).

A continuación, se muestra en la tabla 1 la clasificación taxonómica detallada de las tres especies en estudio.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de *Gastrotheca* spp.

Categoría	Nomenclatura
Reino	Animalia
Filum	Chordata
Clase	Amphibia
Orden	Anura
Familia	Hemiphractidae
Género	<i>Gastrotheca</i>
	<i>Gastrotheca riobambae</i>
Especie	<i>Gastrotheca pseustes</i>
	<i>Gastrotheca litonedis</i>

Adaptado de Barahona, Betancourt, Morales, Toral y Valencia (2008).

2.2 Características de individuos del género *Gastrotheca* spp.

Como se mencionó con anterioridad, los individuos pertenecientes a la familia *Hemiphractidae* se caracterizan porque poseen un tipo de cavidad cutánea a nivel dorsal en forma de “U”, denominado bolsa marsupial. Todos los individuos nombrados a continuación poseen esta característica en común (Acevedo et al., 2011; Duellman et al., 1988).

2.2.1 *Gastrotheca litonedis*

Poseen una longitud límite del rostro a la cloaca de 58 mm en hembras y de 53.8 mm en machos (Chasiluisa, Coloma, Frenkel y Félix-Novoa, 2017). Su coloración es verde con manchas cafés o verdes distribuidas en el dorso del individuo (Chasiluisa et al., 2017). Poseen una cabeza más ancha que larga, el hocico es ligeramente redondeado, su tímpano es de forma verticalmente ovoide, las manos son de tamaño moderado y los dedos no poseen membranas, a su vez los discos de los dedos son diminutos y de forma redondeada (Almendáriz y Orcés, 2004; Chasiluisa et al., 2017).

2.2.2 *Gastrotheca pseustes*

Poseen una longitud límite del rostro a la cloaca de 62,4 mm en hembras y 54,4 mm en machos (Chasiluisa, Ron y Frenkel, 2010b). En general poseen un color verde en su dorso acompañado de marcas de color verde o marrón(Chasiluisa et al., 2010b). Poseen una cabeza más ancha que larga, el hocico es ligeramente redondeado, su tímpano es de forma ovoide y tiene una coloración café o verde y la piel de su dorso es de tipo granular (Almendáriz y Orcés, 2004). Los dedos son largos, sin membranas, y a su vez poseen discos redondos y diminutos (Chasiluisa et al., 2010b).

2.2.3 *Gastrotheca riobambae*

Descripción física: Poseen una longitud límite del rostro a la cloaca de 56,8 mm en machos y 66,4 mm en hembras (Chasiluisa, Frenkel, Vallejo, Félix-Novoa y Ron, 2010a). El dorso tiene una coloración marrón o diferentes tipos de verde y, a su vez, pueden poseer o no manchas de color marrón y verdes oscuras (Chasiluisa et al., 2010a). El hocico es de tipo redondeado, visto de manera dorsal, la cabeza es ancha, el tímpano tiene una coloración verde o café, la mano es de un tamaño mediano, sus dedos son medianamente largos, no poseen membranas y los discos de los dedos son diminutos (Almendáriz y Orcés,2004; Chasiluisa et al., 2010a).

2.3 Conservación *ex situ*

La fauna de anfibios a nivel mundial actualmente está sufriendo una disminución agresiva, esto ha sido corroborado por varios estudios como los de Wake y Vredenburg (2008) y Stuart et al. (2004). Las diferentes actividades humanas influyen de manera directa o indirecta en la extinción no solo de anfibios, sino de muchas especies más, ya sea por expansión de poblaciones, industrialización acompañada de contaminación, agricultura con uso de fertilizantes y plaguicidas, introducción de nuevas especies a los diferentes hábitats; entre otras más, considerándose así a los seres humanos uno de los principales agentes causales para la pérdida de muchas especies de alto valor (Stuart et al., 2004; Wells, 2007). Con el reconocimiento del problema actual al que se enfrentan los anfibios, se han establecidos diferentes planes de acción enfocados específicamente en la conservación. Los centros de crianza *ex situ* son una alternativa para proteger a los individuos que se encuentran amenazados, para así garantizar su mantenimiento y reproducción con el objetivo final de reintroducirlos a su ambiente natural a futuro. Sin embargo, para que estos programas de conservación tengan un éxito requieren de diversas estrategias y personal que posea el entendimiento y experiencia suficiente. La falta de conocimiento en cuanto a nutrición en animales en cautiverio y otros factores más tendrá como consecuencia la presentación de enfermedades y la falta de reproducción (Pessier et al., 2014).

2.3.1 Alimentación y nutrición en anfibios

Un problema detectado en instituciones de cría en cautiverio está relacionado con el manejo nutricional incorrecto, ya que se alimenta a los individuos con dietas improvisadas en las que se incluyen presas que se obtienen con relativa facilidad y otros suplementos dietéticos inadecuados (Pessier, 2008). Los anfibios son capaces de sobrevivir e incluso reproducirse durante largos periodos de tiempo con dietas inadecuadas, no obstante, esto ocasiona consecuencias a largo plazo tales como incidencia de diferentes enfermedades, por lo tanto, pone de manifiesto la importancia de dar un

enfoque científico en cuanto al manejo nutricional de estos animales (Pessier, 2008). Para mejorar las dietas previamente establecidas es necesario conocer a cabalidad la historia natural de las especies que se encuentran en la institución, es decir, conocer qué tipo de alimentación llevaban en su ambiente silvestre. Existen diferentes ensayos experimentales en cuanto a alimentación que han determinado los requerimientos dietéticos en diferentes especies y en sus diferentes etapas de vida, sin embargo, existen pocos ensayos que determinen los métodos más óptimos para la suplementación nutricional a las dietas de animales en cautividad (Pessier, 2008).

La alimentación suministrada a los individuos en cautiverio tiene que asemejarse en cierta medida a la alimentación que estos poseían en vida libre. En su mayoría los anfibios adultos son carnívoros y obtienen sus alimentos mediante la caza de pequeñas presas como insectos, mientras que especies de tamaño más grande se alimentan de pequeños pescados, otros anfibios, reptiles, aves y mamíferos (McWilliams, 2008). Los programas de alimentación de anfibios en cautiverio se limitan a proporcionar cantidades restringidas de presas como insectos en cada día de alimentación, esto se debe al estilo de vida que llevan los individuos en cautividad. Los invertebrados comúnmente suministrados a los anfibios en cautividad son moscas de la fruta (*Drosophila hydei*, *Drosophila melanogaster*), hormigas de varios géneros, grillos (*Gryllus spp.*, *Acheta spp.*), langostas (*Melanoptus spp.*), colémbolos (*Colémbolos spp.*) y la mosca negra (*Musca spp.*) entre otros (McWilliams, 2008).

Los requerimientos nutricionales necesarios no son del todo específicos pero en general se asume que estos deben poseer una dieta alta en proteína en un 50% aproximadamente, la grasa debe ser moderada en un aproximado de un 45% y una baja cantidad de carbohidratos y fibra, en un aproximado no mayor al 5 %, además se debe incluir niveles adecuados de vitaminas A, B1, D3 y E y una relación adecuada en cuanto al calcio y el fósforo (Hadfield, Clayton y Barnett, 2006).

2.4 Sistema digestivo en anfibios

Uno de los principales sistemas en los anfibios es el aparato digestivo. En él se realizan funciones de asimilación de nutrientes, obtención de energía y a su vez eliminación de residuos resultantes de la digestión (Womble, Pickett y Nascone-Yoder, 2016). El tubo digestivo se expande desde la cavidad bucal hasta el ano, que desemboca en la cloaca (Vitt y Caldwell, 2014). De principio a fin, las diferentes regiones que lo conforman son la cavidad bucal, la faringe, el esófago, el estómago e intestino delgado y grueso (Vitt y Caldwell, 2014). A su vez existen gran variedad de glándulas que pueden estar localizadas a nivel de la propia pared de los diferentes órganos o pueden estar alejadas del tubo digestivo como son el hígado y el páncreas, que mantienen su comunicación por medio de largos conductos (Estrada y Uribe, 2002).

2.4.1 Anatomía y fisiología

2.4.1.1 Cavidad oral

En los anfibios la cavidad oral es grande y ancha, sus labios son inmóviles y poco desarrollados en comparación con otras especies de mamíferos (Clayton, 2005). Los dientes de anfibios son típicamente estructuras simples; cada diente tiene una corona bicúspide expuesta anclada a una base; la mayoría de las ranas carecen de dientes en la mandíbula inferior y algunos carecen de dientes en la mandíbula superior (Vitt y Caldwell, 2014). La mucosa oral se caracteriza porque poseen glándulas mucogénicas que producen secreciones que ayudan a la captura de presas (Goodman, 2003).

En el suelo de la cavidad oral se encuentra la lengua, anatómicamente esta posee un tipo de revestimiento mucoso que sirve para la captura de presas y a su vez esta puede extenderse a largas distancias (Clayton, 2005). Para la deglución es necesario un movimiento coordinado que involucra la lengua y la cavidad oral, en el caso de algunos anuros, la retracción de los globos oculares en la cavidad oral ayuda a mover el alimento hacia el esófago (Vitt y Caldwell, 2014).

2.4.1.2 Esófago

Este es un órgano relativamente corto en forma de tubo, que se extiende desde la faringe hasta el estómago, este a su vez se caracteriza por ser distensible y muy glandular (Castro, Lima, Braga, Pinto y Silva, 2008). En anfibios adultos se puede presenciar los esfínteres esofágicos superiores e inferiores (Clayton, 2005). Una vez ingerido el alimento este pasa en forma de bolo hacia el estómago, gracias al movimiento peristáltico del órgano sumado a la presencia de cilios y gran cantidad de células mucosas que lubrican el alimento (Clayton, 2005). En algunas ranas se encuentran presentes glándulas secretoras de pepsinógeno (Clayton, 2005).

2.4.1.3 Estómago

Este se encuentra al lado izquierdo de la cavidad del cuerpo y posee una forma de "C", su función principal es la de romper el alimento y mezclarlo con los jugos gástricos y comenzar el proceso de digestión proteica (Aspinall y O'reilly, 2004). Se han descrito dos tipos de contracciones gástricas en anfibios: el primero es el movimiento fúndico y el segundo es el movimiento pilórico, que es el más fuerte (Clayton, 2005). En el estómago de anfibios también se produce el ácido clorhídrico, que se combina con el pepsinógeno para formar pepsinas que digieren la proteína (Vitt y Caldwell, 2014). La velocidad de la digestión de los anfibios está directamente relacionada con la temperatura ambiente, cabe acotar que la temperatura óptima para la digestión varía entre las especies (Clayton, 2005). Tal como en los mamíferos, el estómago de los anfibios se une al intestino delgado en la región gástrica pilórica donde se encuentra el esfínter pilórico, que controla el paso del contenido del estómago al intestino delgado (Clayton, 2005).

2.4.1.4 Intestino delgado

Este es más simple en comparación al de los mamíferos ya que posee menos pliegues y vellosidades, a su vez este es el lugar más importante en la digestión enzimática y de absorción (Aspinall y O'reilly, 2004; Clayton, 2005). No tiene muchas variaciones a lo largo de su estructura, lo que hace muy difícil

dividirlo en secciones específicas tales como duodeno, yeyuno e íleon, sin embargo, su composición celular varía a lo largo de este (Clayton, 2005). Al llegar el producto de la digestión estomacal al intestino se empieza a mezclar con secreciones del páncreas y sistema biliar (Clayton, 2005).

2.4.1.5 Intestino grueso

El intestino grueso de los anfibios tiene generalmente un diámetro mayor que el intestino delgado y en éste principalmente ocurre la absorción de agua y sales (Vitt y Caldwell, 2014). Los anfibios poseen como porción final del intestino grueso, una estructura denominada cloaca, a través de la cual pasa contenido del tracto urinario, genital e intestinal (Clayton, 2005).

2.4.1.6 Hígado y vesícula biliar

El hígado es la glándula más grande del cuerpo y es bilobulado en anuros y poseen una vesícula biliar que está localizada entre los lóbulos hepáticos (Aspinall y O'reilly, 2004; Clayton, 2005). El sistema biliar sigue el característico patrón y función de los mamíferos. Los contenidos ácidos en el intestino estimulan la liberación de la bilis de la vesícula biliar; a su vez la bilis mejora la digestión de las grasas al romper las partículas de grasa en micelas, lo que aumenta el área de superficie sobre la cual las diferentes enzimas pueden actuar a nivel intestinal (Clayton, 2005).

2.4.1.7 Páncreas

El páncreas es un órgano que se localiza entre el duodeno y el estómago en el ligamento hepatogástrico (Clayton, 2005). Este órgano es considerado una glándula mixta ya que posee una porción endocrina para la producción de diferentes hormonas y una porción exocrina que produce varias enzimas digestivas (Aspinall y O'reilly, 2004; Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003). El número de conductos que conectan al páncreas con el intestino varía entre especies, pero típicamente puede estar presente sólo uno o dos (Clayton, 2005).

2.4.2 Histología

Es de gran importancia poder describir la histología normal de los órganos que se encuentran en estudio, por lo cual se recurre a describir el tracto gastrointestinal en general y la glándula anexa que es el páncreas a continuación.

Tracto gastrointestinal: en cuanto a su organización histológica básica, es un tubo muscular revestido por una membrana mucosa; todos sus segmentos son muy parecidos, especialmente en el caso de sus capas histológicas, aunque pueden existir ciertas variaciones estructurales (Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003).

La primera capa de adentro hacia afuera es la mucosa, que se encuentra en contacto con la luz y está formada por tejido epitelial, que está sostenido por una capa de tejido conectivo denominada lámina propia (Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003).

La submucosa es una capa gruesa de tejido conectivo que contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, esta es únicamente detectable en el estómago en el caso de los anfibios, mientras que en las demás secciones como el esófago e intestino delgado y grueso esta capa se encuentra ausente, por lo cual la lámina propia toma contacto directo con la capa muscular externa (Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003).

Todas las secciones cuentan con una capa muscular externa compuesta por una capa interna circular y una externa longitudinal de músculo liso y por último se nombra a la capa más exterior que es denominada la capa adventicia, que está formada por tejido conectivo que se continúa con la fascia que lo rodea (Estrada y Uribe, 2002; Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003).

Páncreas: en cuanto a su histología normal se encuentra conformado primeramente por una capa externa de tejido conectivo denso denominado cápsula, como segunda estructura se encuentran los racimos de células acinares que están en contacto con los conductos intercalados y a su vez estos

drenan en los conductos más grandes denominados intralobulares. Los conductos interlobulares se encuentran en los septos del tejido conectivo y reciben secreciones de los conductos intralobulares (Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003). Las células endocrinas se encuentran dispersas en todo el órgano en racimos irregulares y secretan hormonas como insulina y glucagón entre otras más (Wiechmann y Wirsig-Wiechmann, 2003).

2.5 Síndrome de Edema

Es un trastorno que se asocia exclusivamente a la cautividad, los anfibios que presentan esta alteración se caracterizan por poseer una acumulación excesiva de líquido en el espacio subcutáneo o/y en la cavidad corporal, conocida como celoma (Clayton, 2010). Aguilar et al. (2010) y Clayton (2010) afirman que incluso los animales pueden duplicar y triplicar su peso corporal debido a la acumulación excesiva de líquido, lo que conlleva a que se limite la movilidad, que exista alteración significativa de las funciones fisiológicas normales y que se afecte la integridad de la piel, lo que puede conllevar a la muerte del animal.

2.5.1 Causas

Existen variedad de causas asociadas para la presentación de edema, entre las más citadas se encuentran la enfermedad renal, enfermedad hepática, enfermedades de la piel, alteraciones cardiovasculares y linfáticas, neoplasias enfermedades bacterianas, fúngicas y virales, enfermedades de tipo reproductivo, enfermedades gastrointestinales (como parasitismos graves) y, por último, un factor trascendental es el ambiental, en el que se incluyen una inadecuada composición del agua y excesiva humedad (Clayton, 2010; Vannevel, 2006; Vaughan et al., 2006). Cabe acotar que Wright y Whitaker (2001) afirmaron que la causa principal del edema muchas veces puede ser desconocida o de tipo idiopático.

2.5.2 Pruebas diagnósticas

En el diagnóstico es esencial realizar primero un examen físico completo. En segundo lugar, se debe evaluar las condiciones medio ambientales que poseen

los animales en cautividad, ya que estos factores pueden contribuir directamente a la presentación de edema o en sí pueden afectar negativamente a la recuperación del animal (Clayton, 2010). Entre las distintas pruebas a realizarse se incluyen las siguientes:

Análisis de líquido: dependiendo del tamaño del paciente el volumen de líquido tomado es limitado, este líquido es clasificado como un trasudado y se han reportado niveles de proteína menores a 2,5 g / dl acompañado de un conteo celular bajo (Clayton, 2010).

Análisis de sangre: en animales lo suficientemente grandes se puede tomar una muestra sanguínea en la cual se evaluará posteriormente el plasma, pero los resultados no son del todo específicos (Pessier, 2009).

Radiografía: en las que se puede observar, en diferentes porciones del cuerpo, acúmulos de líquido de color radiopaco y alteraciones en órganos en general (Vannevel, 2006).

Ultrasonidos: para visualizar la acumulación de líquido y alteraciones secundarias en los diferentes órganos (Clayton, 2010).

Raspados de piel: en busca de agentes infecciosos entre otros (Clayton, 2010).

Evaluación fecal: para determinar la presencia de parásitos (Clayton, 2010).

Evaluación *post mortem*, necropsia e histopatología: tanto la necropsia como la histopatología diagnóstica son los métodos estándares para detectar una amplia gama de problemas (Pessier et al., 2014).

La histopatología es un método estándar muy utilizado en la actualidad, especialmente en anfibios que se encuentran en cautiverio. El principal objetivo del mismo es detectar variedad de problemas que acometen a estos individuos y comprometen su crecimiento, reproducción y su estado fisiológico general (Pessier et al., 2014). Según Pessier (2009), los tejidos a evaluar en individuos

afectados por el Síndrome son: piel, corazón, hígado, riñones, corazones linfáticos caudales y hueso. Sin embargo, al ser este un trastorno multisistémico, no se debe descartar ningún órgano para su análisis.

Evaluación de factores ambientales: entre los factores ambientales que deberían ser evaluados se encuentran los ciclos de luz, la temperatura, la humedad, la calidad del agua con un nivel adecuado de solutos y de oxígeno disuelto; a su vez se debe revisar las dietas utilizadas y los suplementos que son administrados (Clayton, 2010).

2.5.3 Tratamiento

Corrección de los parámetros ambientales inadecuados: el tratamiento para edema incluye primeramente la corrección de los parámetros ambientales inadecuados, así como la calidad de agua (Clayton, 2010). El agua debe tener solutos adecuados y bajos niveles de residuos nitrogenados; además, se debe proporcionar la iluminación adecuada, mejorar la temperatura ambiental y aislar animales afectados para realizar un seguimiento individual y evitar la presentación de enfermedades secundarias (Clayton, 2010).

Tratamiento medicamentoso: para instaurar un tratamiento con el uso de medicamentos, primero se debe hacer un análisis detallado de cada animal con el fin de determinar la causa principal que ha causado la afección (Clayton, 2010). El uso de antibióticos, antifúngicos y antiparasitarios pueden ser apropiados (Vannevel, 2006). Según Clayton (2010), el uso de diurético furosemida es recomendado en caso de que exista una acumulación significativa en celoma o saco linfático, este se utiliza en una dosis de 2-4 mg / kg por vía oral, tópica o intramuscular (Clayton, 2010; Vannevel, 2006).

Eliminación mecánica de fluido: en los casos graves, la aspiración se utiliza inicialmente para obtener muestras de diagnóstico y reducir la presión, seguido por la administración de furosemida, en lugar de realizar aspiraciones repetidas (Clayton, 2010).

Suplementos vitamínicos y minerales: pueden ser muy útiles, especialmente si se sospecha de los desequilibrios dietéticos (Clayton, 2010).

Soluciones electrolíticas: el remojo en soluciones electrolíticas o el aumento de las concentraciones de solutos en el agua suele ser utilizada para ayudar a los animales, sin embargo, no es lo suficiente efectivo para reducir el edema (Clayton, 2010).

3 CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

Los individuos cedidos para el estudio, permanecían en cría *ex situ* en el Centro de investigación y conservación Balsa de Sapos de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). La ubicación del centro es en la ciudad de Quito-Ecuador en el subsuelo del edificio de la Facultad de Biología dentro de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

3.2 Población y muestra

Los individuos del género *Gastrotheca* spp. mantenidos en la Balsa de los Sapos son una población total de 236 individuos. El número de individuos afectados por este Síndrome asciende en un aproximado del 10% (24/236) en comparación a toda la población.

La investigación contó con un total de 10 individuos adultos de la especie: *Gastrotheca litonedis* (n=3), *Gastrotheca pseustes* (n=3) y *Gastrotheca riobambae* (n=4), afectados por el Síndrome. El centro puso a disposición únicamente 10 individuos debido a que los sapos de esta especie se encuentran en potencial peligro de extinción.

Los permisos de manejo de material y animales se encuentran concedidos bajo la Patente de Manejo de Vida Silvestre 2017, No. 007-2017-FAU-DPAP-MA, que se encuentra adjunta en el anexo 3.

3.3 Materiales

3.3.1 Materiales para la caracterización histopatológica

- Placas histológicas del tracto gastrointestinal pertenecientes a los 10 individuos del género *Gastrotheca* spp. en los que se incluyeron: lengua, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y páncreas.
- Aceite de inmersión.

- Equipo: Microscopio CX21®Olympus.

3.4 Metodología

El presente estudio fue de tipo descriptivo observacional. La fase práctica fue realizada en el Laboratorio de Histopatología de la Universidad de Las Américas. Se utilizaron placas histológicas de 10 individuos afectados por el Síndrome de Edema. A continuación, se detalla por puntos todo el procedimiento realizado en el estudio.

3.4.1 Procesamiento de las muestras

Las muestras para examen histopatológico fueron previamente procesadas en el Laboratorio de Histopatología de la Universidad de Las Américas en el estudio de Quispe (2016). El procedimiento para la obtención de láminas histológicas se realizó de la siguiente manera: las muestras de tejidos tomadas de la necropsia fueron fijadas en formalina al 10% y sumergidas en bloques de parafina para luego ser sometidas a corte con micrótopo, en secciones de aproximadamente 5 μm de espesor; finalmente se realizó la tinción de rutina hematoxilina eosina (Zachary, McGavin, Ackermann y Brown, 2011).

3.4.2 Lectura de placas histológicas

Se dispuso de un total de 50 placas histológicas, estas fueron observadas con un microscopio CX21®Olympus con el uso de objetivos 4x, 10x ,40x y 100x.

Se realizó un estudio específico de los tejidos teniendo como referencia literatura especializada, lo que permitió hacer una comparación entre tejidos sanos y afectados. Para la lectura de placas se contó con la asesoría del PhD. Genoy-Puerto. Una vez identificadas cada una de las lesiones de acuerdo a su severidad, cronicidad y extensión, se procedió a realizar su clasificación, en primarias (que fueron la que determinaron los principales diagnósticos) y en sus correspondientes lesiones secundarias.

Como último punto se procedió a la toma de fotografías de las lesiones encontradas, que fueron realizadas con el microscopio de luz Axio Lab.A1® (Zeiss) y cámara AxioCamErc 5s® (Zeiss).

3.4.3 Análisis de los datos

Cada hallazgo encontrado fue detallado en tablas dispuestas en un documento en Microsoft Excel® para su posterior análisis descriptivo. Para la realización del análisis e interpretación de los hallazgos microscópicos se tuvo en cuenta literatura específica sobre patología del tracto gastrointestinal y se contó con la asesoría del PhD. Genoy-Puerto.

3.5 Diseño experimental

3.5.1 Hipótesis

H1: Se encuentran hallazgos histopatológicos en los diferentes órganos de estudio del tracto gastrointestinal en ranas del género *Gastrotheca* spp. afectadas por el Síndrome de Edema.

3.5.2 Diseño experimental

Se realizó un estudio observacional y descriptivo de los hallazgos histopatológicos encontrados en órganos del tracto gastrointestinal de individuos adultos del género *Gastrotheca* spp. eutanasiados en el año 2016, en los cuales se había evidenciado en el examen clínico la acumulación excesiva de líquido en espacio subcutáneo e intracelómico entre otras alteraciones sistémicas.

Para la evaluación histopatológica es necesario tener el conocimiento adecuado en cuanto la anatomía, fisiología e histología normal de los individuos del género de estudio, para lo cual se contó con un atlas fotográfico y descriptivo de la histología normal de ranas de la especie *Xenopus laevis* de Wiechmann y Wirsig-Wiechmann (2003). Cabe recalcar que órganos como lengua y esófago diferían en cuanto a estructura histológica en individuos *Gastrotheca* spp. en comparación con la especie *Xenopus laevis*, por lo cual

estudios de caracterización como los de Gallego-Huidobro, Pastor y Calvo (1992), en *Rana perezii* de esófago y de Entidhar, Baydaa y Iman (2014), en la lengua de la *Rana ridibunda*, permitieron caracterizar estos órganos. Para la identificación y descripción de alteraciones se contó con las bases teóricas descritas por Zachary, McGavin, Ackermann y Brown (2011) y Trigo y Valero (2002). Los diagnósticos emitidos fueron confirmados por literatura científica incluida en la discusión.

3.5.3 Análisis estadístico

El estudio realizado fue de tipo descriptivo observacional, por lo cual se realizó una base de datos en Microsoft Excel[®] en el cual se incluyó todos los hallazgos histopatológicos detectados mediante la observación de las placas histológicas de los diferentes órganos del tracto gastrointestinal de ranas de las especies *Gastrotheca* spp. afectadas por el Síndrome de Edema. Cada uno de los datos obtenidos fueron representados con estadística descriptiva mediante representación tabular y gráfica.

4 CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Hallazgos histopatológicos

Mediante la caracterización histopatológica de placas previamente procesadas de los 10 individuos del género *Gastrotheca* spp. afectados por el Síndrome de Edema, se confirmó la presencia de lesiones primarias y secundarias en todos los animales de estudio en los diferentes órganos del tracto gastrointestinal. Como primer punto se relatan las lesiones primarias de manera general, luego se procede a describir de forma específica las alteraciones que determinaron cada diagnóstico principal por órgano, complementándose al mismo tiempo con la descripción de las lesiones secundarias y con su respectiva discusión. Como punto final se anexan las lesiones secundarias presentes en todos los órganos a manera de resumen.

4.1.1 Lesiones primarias

Las lesiones primarias halladas determinaron los principales diagnósticos, a su vez estas se presentaron con mayor frecuencia en órganos como: lengua, intestino grueso y páncreas. Mientras que, en órganos como esófago, estómago e intestino delgado no se presentaron. En la figura 1 se representa de forma porcentual el número de lesiones primarias halladas en los diferentes órganos, mientras que en la tabla 2 se detalla la lista de diagnósticos de forma resumida.

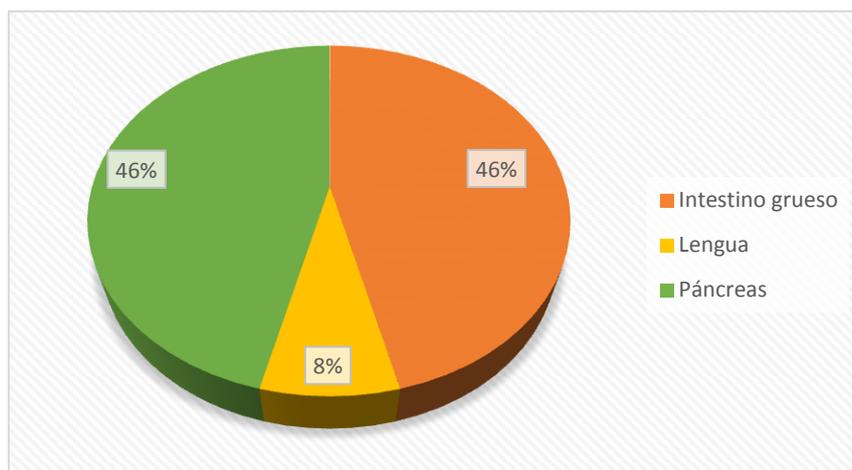


Figura 1. Porcentaje de lesiones histopatológicas primarias en órganos del tracto gastrointestinal.

Tabla 2

Principales diagnósticos en órganos del tracto gastrointestinal con su frecuencia.

Órgano	Diagnóstico	Frecuencias animales afectados	Identificación
Lengua	Glositis	1/10	2329
Intestino grueso	Enteritis parasitaria	6/10	1995, 1995(2), 1856, 1478, 1133(2), 3087
Páncreas	Pancreatitis	6/10	3087, 1133(2), 2329, 1856, 1467, 1478

A continuación, se procede a describir de forma específica las alteraciones primarias que determinaron cada diagnóstico por órgano, complementándose a su vez con la descripción de sus respectivas lesiones secundarias.

4.1.1.1 Glositis

El 10% (1/10) de los animales presentó lesiones primarias representativas a nivel de lengua. Como alteración primaria en el individuo *Gastrotheca pseustes* 2329, se presenció un infiltrado basófilo mononuclear severo generalizado. No se evidenció alteración secundaria. Se puede observar la alteración a detalle en la (Figura 2).

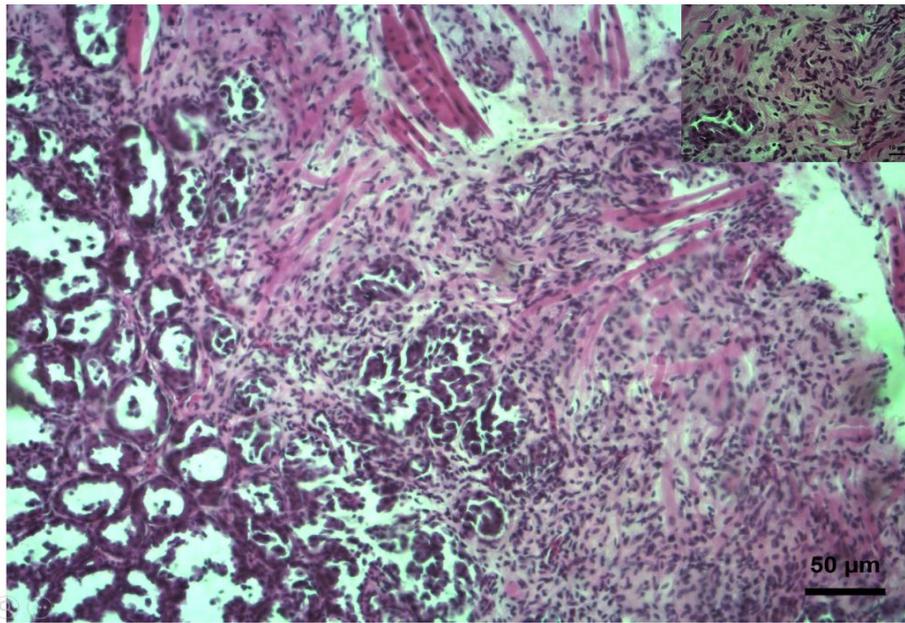


Figura 2. Glositis. Infiltrado basófilo mononuclear severo generalizado. Microfotografía lengua (H y E). *Gastrotheca pseustes*, 2329-6. 40x. Recuadro superior derecho (Infiltrado basófilo mononuclear): 100x. Tomado de Genoy-Puerto, A, 2017.

Según Fidalgo, Rejas, De Gopegui y Ramos (2003), la glositis se refiere a la presentación de una inflamación, sea aguda o crónica, generalmente acompañada de la inflamación en encías y demás estructuras de la cavidad oral. Zachary, McGavin, Ackermann y Brown (2011) afirman que pueden encontrarse en este órgano erosiones, abscesos, granulomas y úlceras, que han sido causadas particularmente por agentes infecciosos como virus, traumatismos, intoxicaciones y enfermedades. Pese a que la inflamación resulta evidente, es difícil determinar el agente primario que desencadenó la inflamación, ya que puede estar ausente (Zachary et al., 2011).

Forzán, Jones, Ariel, Whittington, Wood, Markham y Daoust (2017), realizaron un estudio en ranas de la especie *Lithobates sylvaticus*, en las cuales se inoculó oralmente ranavirus; estos individuos demostraron a su vez alteraciones histopatológicas a nivel oral y específicamente en lengua se encontraron pequeños puntos hemorrágicos acompañados de inflamación mononuclear basófilica en la capa muscular y el epitelio de la superficie ventral.

El estudio realizado por Claire, Wellehan, Owens, Gaffney, Childress, Groff y Weber (2014), en reptiles *Pogona vitticeps* infectados por iridovirus demostró la presencia de infiltrado mononuclear severo en la lengua de todos los individuos, sugiriéndose que la infección con este virus empieza principalmente en la cavidad oral, que podría ser la vía de entrada del mismo. En el presente estudio se determinó a su vez la presencia de infiltrado mononuclear severo generalizado en la lengua del individuo 2329 (Figura 2), coincidiendo en cuanto a descripciones con los estudios antes nombrados. Sin embargo, no se puede determinar si específicamente el agente causal fue infeccioso o si se encuentra ligado a un virus de la familia *Iridoviridae*, ya que se requieren métodos diagnósticos muchos más específicos.

Cabe acotar que de igual manera autores como Marschang, Braun y Becher (2005), aseveran que la distribución de lesiones histopatológicas en virus de la familia *Iridoviridae* pueden ser variantes, por lo que solamente la histopatología no es un buen método específico para determinar la presencia del mismo; por esta razón es necesario la utilización de mejores métodos diagnósticos. Se sugiere realizar estudios más profundos acerca del virus.

4.1.1.2 Enteritis

El 60% (6/10) de los animales presentaron cuadros de enteritis parasitaria, mientras que el 40% (4/10) restante de animales no presentó ningún hallazgo primario significativo en intestino grueso.

Grant (2007) y Trigo (2011) afirman que los procesos inflamatorios en intestino pueden ser causados de manera directa o indirecta por la presentación de diferentes enfermedades cuyos agentes causales pueden ser virales, bacterianos, parasitarios o la presencia de toxinas. El intestino tiene diferentes formas de reaccionar ante la presentación de lesiones (Trigo, 2011). Grant (2007), asevera que la enteritis puede variar de un infiltrado agudo hacia uno cada vez más crónico. Existen varios tipos de enteritis, sin embargo, se nombra a continuación un tipo de enteritis que se encontraba más ligada a los

hallazgos encontrados en los animales de estudio que es la enteritis mucosa, que puede ser de tipo aguda o crónica (Grant, 2007).

Grant (2007) y Chamizo (1995) sostienen que la enteritis mucosa se caracteriza por la congestión de capilares y vénulas, presencia de edema en la lámina propia, un aumento moderado de las células inflamatorias como: neutrófilos, linfocitos y macrófagos, descamación de células epiteliales y dilatación de las criptas. A su vez, estos mismos autores describen al proceso de enteritis mucosa en su forma crónica como una continuación al proceso agudo; cabe acotar que este también aparece de forma gradual en ciertas helmintiasis (Chamizo, 1995; Grant, 2007). Microscópicamente se pueden encontrar neutrófilos y eosinófilos esparcidos en la lámina propia, evidenciarse hiperplasia de células epiteliales y la presencia de tejido conectivo dispuesto de manera horizontal en la lámina propia como consecuencia de la curación de erosiones pasadas (Grant, 2007; Chamizo, 1995).

Todos los individuos del estudio poseían enteritis de tipo mucosa debido a que se observó la presencia de infiltrados en la lámina propia que eran procesos de leves a severos, daños a nivel de la mucosa epitelial y procesos vasculares como congestión y edema, concordando con lo descrito por los autores; sin embargo, la presentación de cada uno difiere, por lo cual se procede a realizar una descripción detallada de los hallazgos encontrados en todos los animales a continuación.

El desprendimiento del epitelio de la mucosa fue característico en todos los individuos del estudio. Se determinó la presencia de infiltrado basófilico y eosinofílico de leve a moderado principalmente en lámina propia a excepción del individuo 1133(2) que no poseía infiltrado eosinofílico. El animal 1856 tuvo un infiltrado severo basófilo mononuclear que se extendía desde la lámina propia a la capa muscular, ver en la (Figura 3).

En cuanto alteraciones a nivel vascular, se visualizó procesos de congestión de leve a moderada, siendo severa en el caso de individuo 1856, el cual presentó una congestión multifocal severa en la capa muscular externa y en el individuo

1478, que presentó una congestión severa generalizada en la túnica adventicia, ver en la (Figura 4). El individuo 1995(2) presentó edema sumado a la congestión ver en (Figura 7).

El proceso de enteritis fue asociado a la presencia de entidades compatibles con parásitos, estos a su vez fueron localizados en la luz del órgano y dentro del epitelio de la mucosa. En la tabla 3 se encuentra la lista de parásitos hallados en los individuos.

En el individuo 3087 se diagnosticó enteritis de tipo parasitaria debido a que guarda relación cada hallazgo con los cinco animales antes nombrados, pese a no haber encontrado estructuras parasitarias en tejido o en la luz del órgano, lo que sugiere que al corte del órgano se debió eliminar en su totalidad el contenido intestinal.

En intestino grueso se evidenciaron diferentes tipos de parásitos pertenecientes a los grupos de *metazoos* y *protozoos*. En los estudios realizados por Copete, Ginés y Osorio (2013) y Chinchilla, Guerrero, Gutiérrez, Sánchez y Rodríguez (2005) se reportaron una alta prevalencia de parásitos pertenecientes a estos dos grupos en fauna silvestre en general y anuros en cautiverio.

La identificación exacta de los diferentes parásitos resulta difícil únicamente con el método diagnóstico de histopatología y solo se podría llegar al diagnóstico certero de los parásitos encontrados mediante otras pruebas diagnósticas, sin embargo, las estructuras parasitarias descritas en esta investigación coinciden con las descripciones realizadas por varios autores, pudiéndose identificar: *Strongyloides* sp., *Oxyuris* sp., protozoarios ciliados y *Protoopalina* sp. Su descripción se encuentra en la (Tabla 3).

Tabla 3

Identificación de parásitos en los individuos del estudio.

Identificación individual	Localización	Parásito
<i>Gastrotheca litonedis</i> 1478	Epitelio de la mucosa	<i>Strongyloides</i> spp. (Nematodo)
<i>Gastrotheca pseustes</i> 1856	Epitelio de la mucosa y luz del órgano	<i>Strongyloides</i> spp. (Nematodo)
<i>Gastrotheca litonedis</i> 1133(2)	Entre el epitelio y la luz del órgano	<i>Oxyuris</i> spp. (Nematodo)
<i>Gastrotheca riobambae</i> 1995	Luz de órgano	<i>Protoopalina</i> sp. (Protozoario)
<i>Gastrotheca riobambae</i> 1995(2)	Luz de órgano	<i>Ciliado</i> (Protozoario)

A continuación, se procede a realizar una descripción por grupo de parásito hallado en intestino grueso.

4.1.1.2.1 Nematodos

4.1.1.2.1.1 *Strongyloides* spp.

Kozubsky y Archelli (2004) y Grant (2007) afirman que las larvas de *strongyloides* infectan específicamente el intestino del huésped en la mayoría de especies, y estas se caracterizan porque establecen túneles alrededor de las bases de las vellosidades y persisten en este lugar; a su vez describen a estos parásitos de la siguiente manera: los vermes adultos suelen medir de 2 a 6 mm dependiendo de la especie y tienen una forma filiforme, mientras que las larvas que emergen del huevo son móviles y tienen un extremo cefálico romo y extremo caudal agudo, como se puede observar en la (Figura 3).

En la investigación realizada por Patterson-Kane, Eckerlin, Lyons, y Jewell (2001) en la rana *Hyla chrysoscelis*, se describieron lesiones histopatológicas a nivel intestinal en las cuales se observaron varios espacios quísticos claros, circulares e intraepiteliales compatibles con parásitos, acompañado a su vez

por cambios inflamatorios en la lámina propia. El infiltrado inflamatorio fue mixto con predominio de células mononucleares acompañada de una hiperplasia del epitelio de la cripta y, por último, atrofia de las vellosidades.

El estudio de Paula (2011) reportó la presencia de estrongiloides en la especie *Hypsiboas polytaenius* que se encontraba en vida libre; las alteraciones presentes fueron descritas a nivel de intestino grueso, donde los parásitos se encontraban embebidos dentro del epitelio de la mucosa del mismo y acompañado de agregados inflamatorios mixtos ver en la (Figura 5).

En el presente estudio se reportaron dos animales afectados: el individuo *Gastrotheca litonedis* 1478 y el individuo *Gastrotheca pseustes* 1856. Los hallazgos en intestino grueso se caracterizaron por presentar varias estructuras redondeadas embebidas dentro del epitelio de la mucosa del órgano que no sobrepasaban la lámina propia; estos eran compatibles a su vez con huevos y larvas enquistadas. Sumado a eso, se encontraron larvas fusiformes en el epitelio de la mucosa y en la luz del órgano, también se pudo verificar la presencia de infiltrado inflamatorio con predominio de células mononucleares basófilicas e infiltrado eosinofílico en la lámina propia y, por último, se evidenció un desprendimiento del epitelio de la mucosa. Se visualizó alteraciones vasculares como la presencia de congestión severa en túnica adventicia en el individuo 1478 y una congestión multifocal severa en la capa muscular externa del individuo 1856. Estos cuadros de enteritis y presencia de diferentes estadios larvarios como larvas y huevos coinciden con lo descrito en la literatura por Grant (2007), Kozubsky y Archelli (2004), Patterson-Kane et al. (2001) y Paula (2011), la diferencia es que en los casos citados por los autores no se encontró cuadros de alteraciones vasculares como es el caso de este estudio, que fueron procesos severos de congestión específicamente en las diferentes capas histológicas del órgano. Las fotos que detallan los dos individuos que presentaron este parasito están en las figuras 3 y 4.

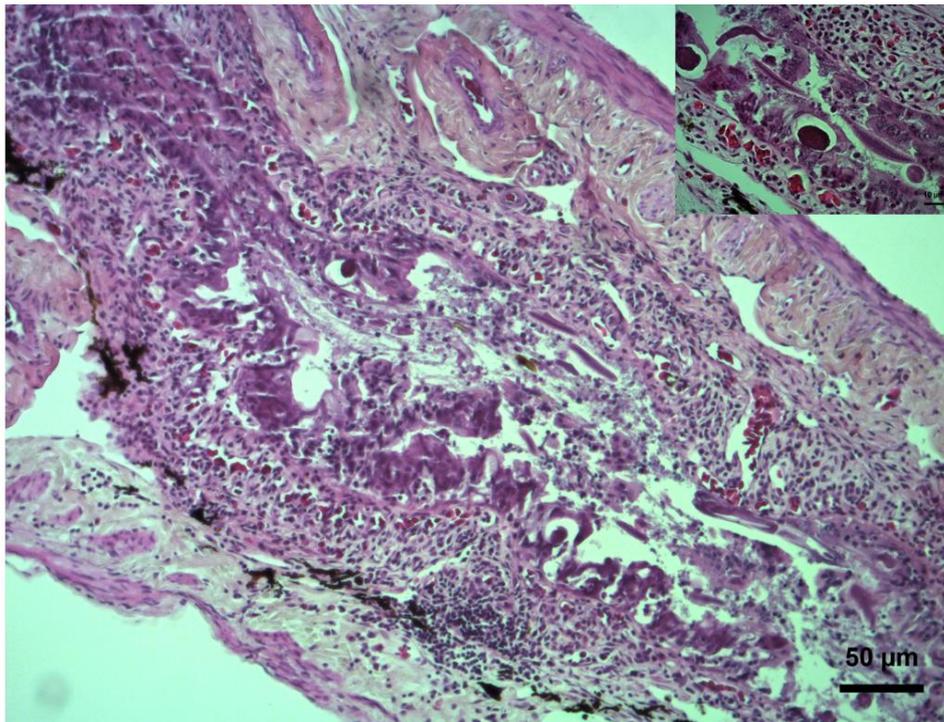


Figura 3. Enteritis parasitaria. Se observa desprendimiento del epitelio de la mucosa, a su vez dentro del epitelio de la mucosa formas arredondeadas basofílicas (huevos) y en la luz varias estructuras fusiformes basofílicas (larvas) compatibles con *Strongyloides* spp. Presencia de infiltrado basófilo mononuclear severo. Microfotografía intestino grueso (H y E). *Gastrotheca pseustes*, 1856-14. 10x. Recuadro lateral derecho (Huevos y larvas): 100x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

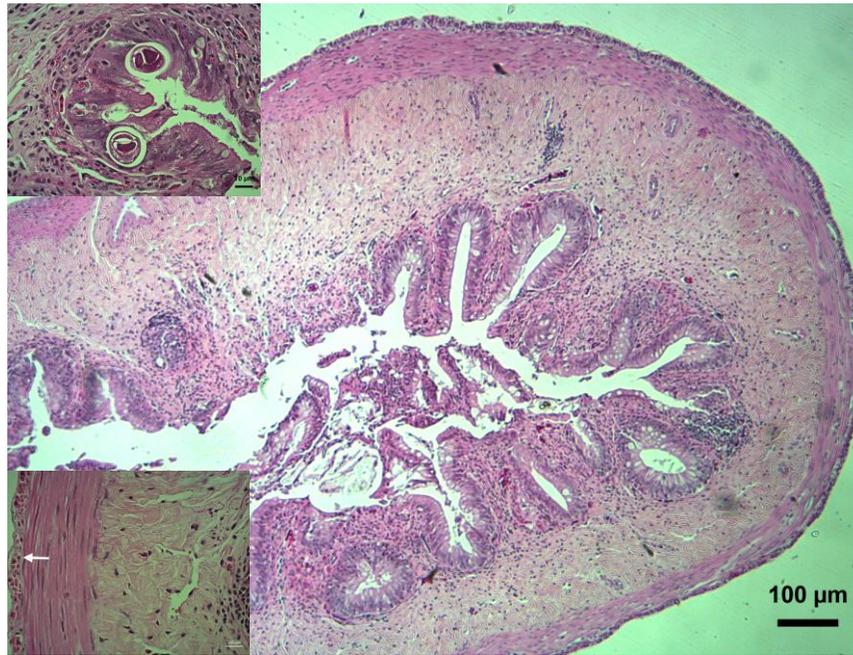


Figura 4. Enteritis parasitaria: Se observa un desprendimiento del epitelio de la mucosa a su vez dentro del epitelio se visualizaron larvas enquistadas compatibles con *Strongyloides* spp. (Recuadro superior izquierdo). En la lámina propia se presencia infiltrado basófilo mononuclear multifocal de leve a moderado con pequeña cantidad de infiltrado eosinofílico leve multifocal. Túnica adventicia hay congestión severa generalizada (Flecha blanca) (Recuadro inferior izquierdo). Microfotografía intestino grueso (H y E). *Gastrotheca litonedis*, 1478-10. 10x. Recuadros laterales 100x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

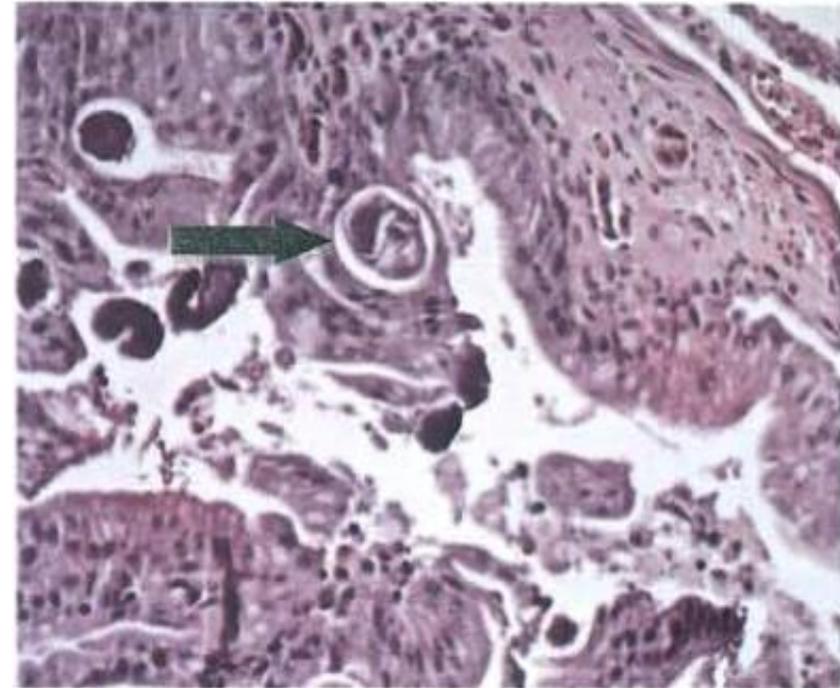


Figura 5. Enteritis parasitaria. Presencia de *Strongyloides* spp (flecha negra) en la especie *Hypsiboas polytaenius*. El parásito se encuentra embebido en la mucosa del órgano y acompañado de infiltrado basófilo mononuclear, se observa desprendimiento del epitelio de la mucosa. Microfotografía intestino grueso (H y E). 200x. Tomado de Paula, 2011.

4.1.1.2.1.2 *Oxyuris spp.*

Dwight (2013) y Quiroz (2013) describen a los oxiuros como vermes pequeños que se localizan a nivel de intestino grueso en su fase adulta. En el corte histológico se puede visualizar que estos poseen una cutícula formada de fibras de colágeno, generalmente este presenta alas laterales y la cutícula puede o no estar acompañada por estriaciones o abultamientos. Como segundo punto este posee una hipodermis que se extiende en todo el cuerpo como cordones ventrales, dorsales y laterales. Las células musculares se proyectan en cada uno de estos cordones, que a su vez se conectan a sus respectivos nervios dorsal y ventral, el esófago se encuentra central y tiene una musculatura bien desarrollada. La musculatura es meromiaria y platimiaria y es frecuente solo reconocer de dos a tres células musculares en cada cuadrante (Dwight, 2013). Ante lo descrito por los autores arriba mencionados, se confirma mediante la literatura y fotografías que, la estructura encontrada en el tejido pertenece a un *Oxyuris spp.* (Figura 6). Gutiérrez (2000) afirma que estos parásitos suelen ser hallados comúnmente en la luz de órgano sin causar ninguna alteración en los tejidos, pero en ciertos casos también se los ha podido encontrar embebidos en la mucosa del epitelio intestinal, generando una respuesta inflamatoria polimorfonuclear debido a la formación de abscesos alrededor del parásito.

En comparación con el estudio de Gutiérrez (2000), se determinó la presencia del verme a nivel del epitelio de la mucosa y alrededor se evidenció infiltrado basófilico leve, acompañado del desprendimiento de la mucosa, pero sin formación de abscesos. La alteración y el parásito puede ser visualizada en la (Figura 6).

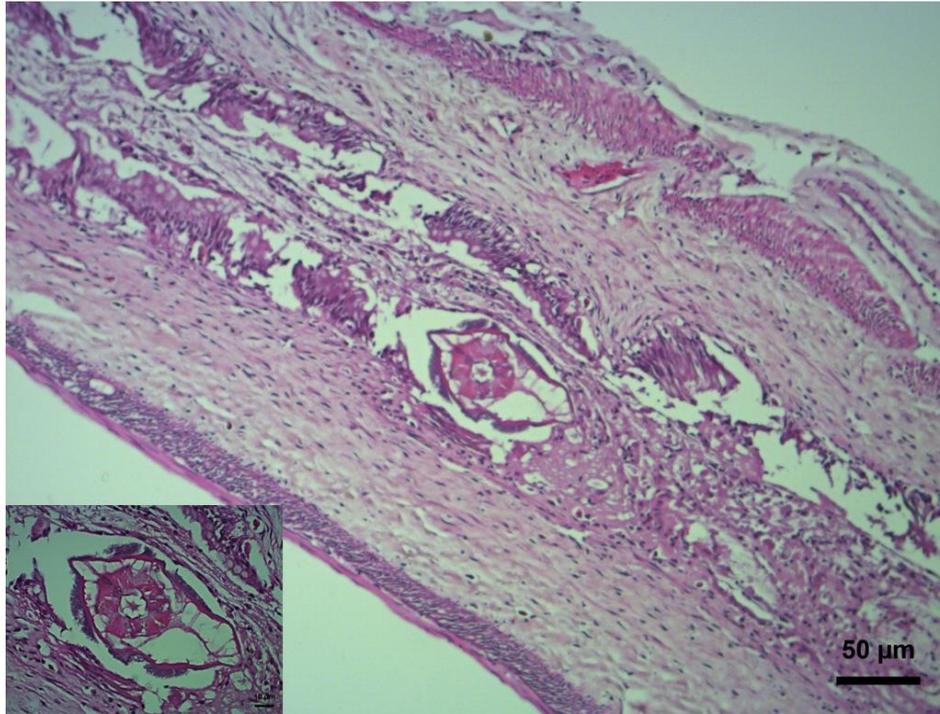


Figura 6. Enteritis parasitaria. Se observó un infiltrado basófilo leve en la lámina propia. Desprendimiento de la mucosa del órgano. Entre el epitelio y la luz se observa un parásito compatible con *Oxyuris* spp. Microfotografía intestino grueso (H y E). *Gastrotheca litonedis*, 1133(2). 10x. Recuadro lateral izquierdo (*Oxyuris* spp.): 100x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

4.1.1.2.2 Protozoarios

4.1.1.2.2.1 Protozoarios ciliados

Según Dwight (2013), los protozoarios que se encuentran en los cortes histológicos se visualizan como células individuales que poseen núcleos muy definidos, además, pueden estar en grupos y ubicarse en el interior de las células del hospedador o fuera de ellas.

Madhusree, Rupendu, y Probir (2011) y Sonsoles (1997), afirman que entre los parásitos más prevalentes en intestino grueso en anfibios se encuentran los protozoarios ciliados y opalinidos, estos se encuentran de manera común sin ocasionar daños significativos al huésped. Sin embargo, estos pueden convertirse en patógenos especialmente en individuos que se encuentran en cautividad, que sumado a la falta de higiene en el lugar, puede producir una

estado infectante generando así enfermedad con varias presentaciones (Mehlhorn, Duwel y Raether, 1994).

Balantidium spp pertenece al grupo de los protozoarios ciliados, su trofozoíto se caracteriza por tener un tamaño que varía de una especie a otra y tener una forma alargada u ovoide, al mismo tiempo presenta macro núcleo esférico y micro núcleos y todo su cuerpo se encuentra recubierto de cilios (Dwight, 2013). Estos protozoarios son comensales, sin embargo, cuando existe asociación con bacterias pueden penetrar la pared intestinal causando cuadros entéricos. En el individuo *Gastrotheca riobambae* 1995(2) se identificó varias células individuales con un núcleo bien definido y que poseían cilios alrededor de todo su cuerpo, todos ellos se encontraban en la luz del órgano, siendo compatible con trofozoítos perteneciente a *Balantidium* spp.

Quiroz (2013) afirma que este tipo de protozooario puede producir cuadros entéricos graves caracterizados por presentar ulceraciones que pueden extenderse hasta la capa muscular, puede existir necrosis del epitelio y presencia de infiltrados mononucleares. En cuanto el cuadro entérico del individuo 1995(2), presentó un desprendimiento del epitelio de la mucosa, infiltrado basofílico focal y eosinófilo multifocal, acompañado de una congestión con edema en la lámina propia ver en (Figura 7). El infiltrado y el daño al epitelio son evidentes, sin embargo, no llega a la capa muscular. Por otro lado, no se encontraron protozoarios dentro del epitelio, solamente fuera, sugiriéndose que pudo existir anteriormente un daño por parte de los mismos.

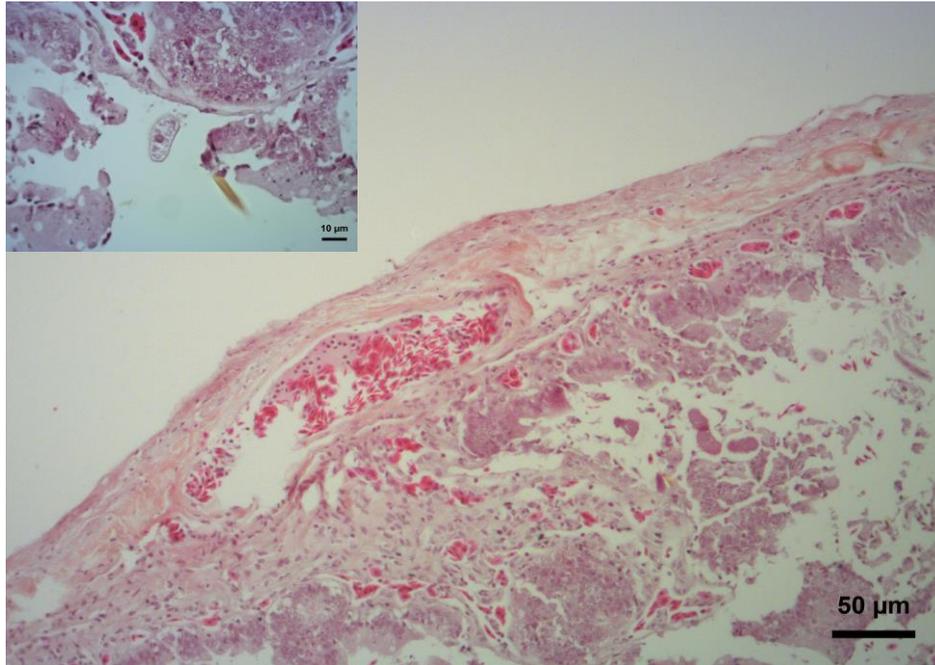


Figura 7. Enteritis parasitaria. Presencia de congestión de leve a moderada multifocal acompañado de edema en lámina propia además de un infiltrado basófilo focal junto a un infiltrado eosinofílico multifocal. Se observa desprendimiento de la mucosa. En el recuadro superior izquierdo se observa una célula individual con un núcleo bien definido y que poseía cilios alrededor de todo su cuerpo, este se encontraba en la luz del órgano siendo compatible con un trofozoito de protozoarios ciliado de *Balantidium* spp. Microfotografía de intestino grueso (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995(2).10X. Recuadro: 100x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

4.1.1.2.2.2 Opalinidae

Los opalinidos en cuanto a su tamaño son de medianos a grandes, estos se encuentran recubiertos con múltiples cilios y pueden encontrarse dos o muchos núcleos dentro del organismo. La principal diferencia con los ciliados es que carecen de estructuras orales y sus núcleos no se diferencian en macro y micro núcleos (Kostka, 2016). Un género perteneciente a esta familia Opalinidae es la *Protoopalina*, que se caracterizan por tener una forma cilíndrica, además tiene una compleja red ramificada de haces de microfibras dentro de la célula y se pueden observar microtúbulos corticales que forman parte de su estructura según Kostka (2016) y Mignot y Molina (1988).

En el presente estudio se identificó en el individuo *Gastrotheca riobambae* 1995 la presencia de estructuras fusiformes alargadas recubiertas en su totalidad de cilios en el cuerpo y con la presencia de una zona cortical de color eosinofílico,

siendo compatible con la descripción realizada por los autores mencionados con anterioridad de *Protoopalina* sp. Estos se encontraban en la luz del órgano y muy cerca de donde se encontraba la pérdida de continuidad del epitelio, asimilando que estas ocasionaron daño en el mismo, produciendo la presencia de infiltrado eosinofílico y basófilico y demás alteraciones vasculares que pueden observarse en la (Figura 8).

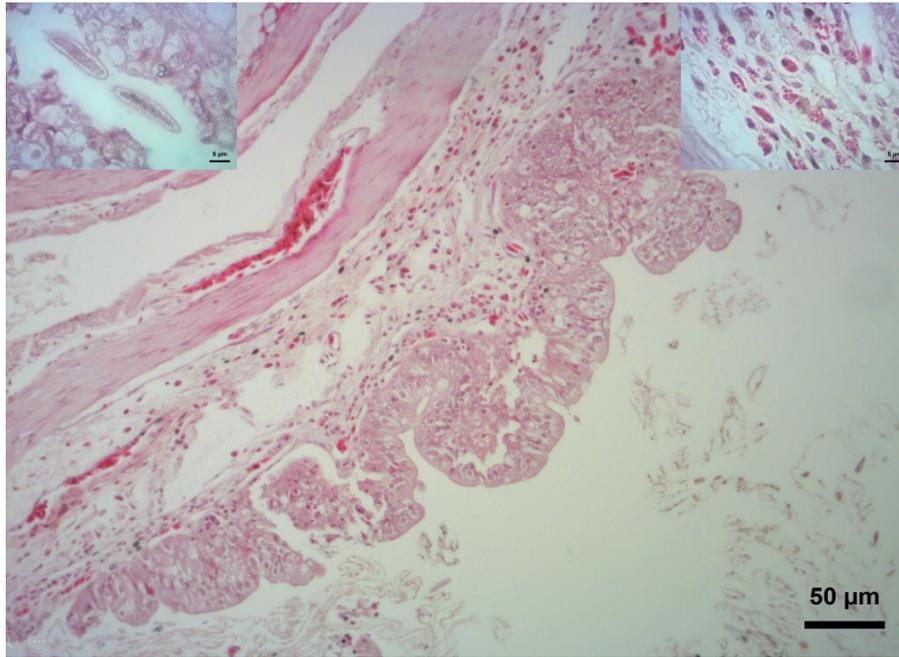


Figura 8. Presencia de infiltrado eosinofílico generalizado e infiltrado basófilo focal, acompañado de un desprendimiento de la mucosa. Se observan estructuras fusiformes eosinofílicas en la luz del órgano compatibles con *Protoopalina* sp. Congestión leve multifocal en adventicia y lamina propia. Microfotografía intestino grueso (H y E). *Gastrotheca riobambae*, 1995. 10x. Recuadro lateral derecho (infiltrado eosinofílico) e izquierdo (parásitos): 100x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

4.1.1.3 Pancreatitis

El 60% (6/10) de los animales presentaron un cuadro de pancreatitis, mientras que el 40% (4/10) no presentó ninguna alteración en el mismo.

Todos los individuos poseían fibrosis a nivel de los conductos interlobulares, estos procesos se caracterizaban por ser de moderados a severos; sumado a esto, los individuos 1478 y 1467 presentaron hiperplasia de las células del conducto interlobular. Los individuos 1467 y 3087 presentaron agregados basófilos y este último adicionalmente presentó en menor cantidad agregados eosinófilos.

Se observaron alteraciones vasculares en todos los individuos, principalmente se presentó congestión de leve a severa y fibrosis alrededor de los vasos sanguíneos; agregado a esto los individuos 1856 y 1133(2) presentaron edema.

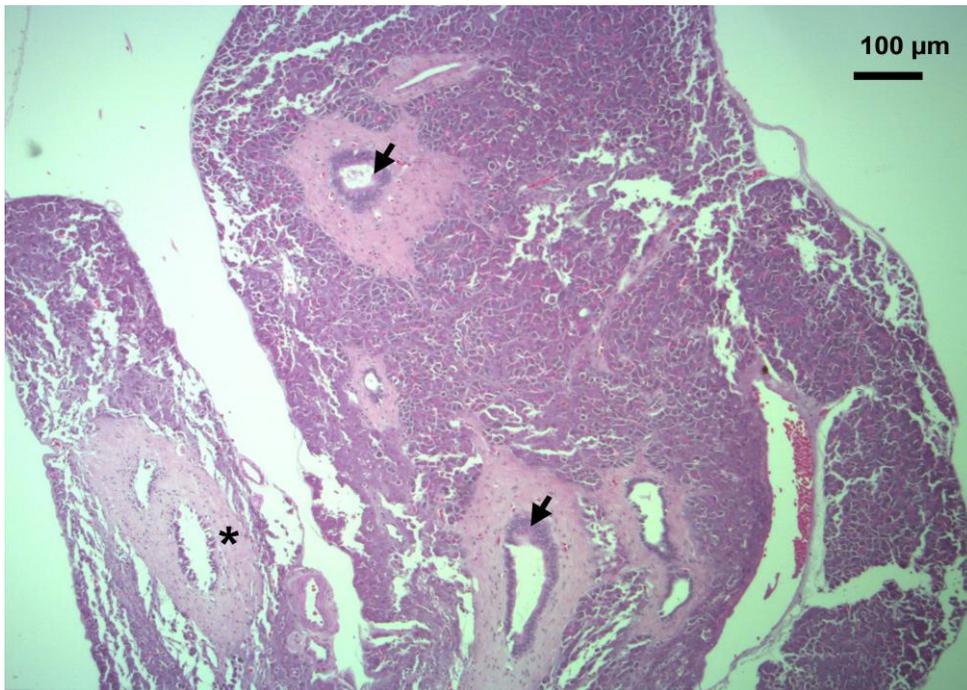


Figura 9. Presencia de hiperplasia en las células de conducto interlobular (Flechas negras) acompañado de una fibrosis de moderada a severa multifocal (*). Microfotografía de páncreas (H y E). *Gastrotheca litonedis*, 1478-9. 10x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.

Según Detlefsen, Sipos, Feyerabend, y Klöppel (2005), la presencia de fibrosis en el páncreas se observa en casos de pancreatitis crónica primaria y en los procesos obstructivos de los conductos. Como en todos los órganos, para que se inicie el proceso de fibrogénesis primero debe existir una lesión tisular. El sitio donde inicia el proceso de fibrogénesis puede determinar el patrón resultante de fibrosis en el páncreas (Detlefsen et al., 2005).

Diversas son las causas para la presentación de pancreatitis, entre las que se describen la hipertrigliceridemia hiperlipoproteinemia, isquemia pancreática, terapia con corticoesteroides, reflujo de conducto duodenal, hipercalcemia, neoplasias, obstrucción de conducto pancreático por cálculos, neoplasias, migración parasitaria y, por último, de etiología desconocida (Marcato, 2010).

La terminología histopatológica en cuanto a pancreatitis actualmente no se encuentra estandarizada en medicina veterinaria, en comparación con la medicina humana, por lo tanto, es difícil realizar estudios comparativos entre diferentes autores (Marcato, 2010). En el estudio de Thompson, Seshadri y Raffe (2009), en el que se indujo en roedores a pancreatitis, se pudo observar a nivel microscópico depósitos de fibrina en el órgano, acompañado de infiltrados de neutrófilos, linfocitos e histiocitos. La pancreatitis crónica está caracterizada por presencia de fibrosis y daño en el parénquima del órgano irreversible, acompañado de infiltrado linfocítico, así mismo con células mononucleares y polimorfonucleares, se sustituye las diferentes células del órgano por fibrosis y además también puede existir hiperplasia del epitelio de conductos pancreáticos (Thompson et al., 2009).

La hipertrigliceridemia es una de las causas que influyen en la presentación de pancreatitis y se encuentran mencionados en los estudios de Jiménez et al. (2008), Kota, Krishna, Lakhtakia, y Modi (2013) y Senosiain et al. (2013), en los que se menciona que la obesidad en humanos junto a la mala alimentación desencadenan cuadros de hipertrigliceridemia. Todos los individuos del estudio con diagnóstico de pancreatitis de acuerdo a los hallazgos encontrados por Quishpe (2016) coincidieron en que tenían lipidosis hepática y a su vez lipidosis corneal, pudiendo entablar una relación directa en que la principal etiología

para que se haya presentado esta alteración fue la mala alimentación rica en grasas de los individuos, conllevando a que se produzca una hipertrigliceridemia. Mayer y Donnelly (2013) y O'Rourke y Rosenbaum (2015) mencionan que los animales mantenidos en cría *ex situ* poseen una alimentación alta en colesterol, ya que las fuentes no son muy variadas y se limitan solo a presas fáciles de reproducir como grillos, gusanos, entre otros más que son altos en grasas, esto sumado a que el anfibio no posee la capacidad de asimilar y eliminar el exceso de lípidos y colesterol tiene como consecuencia la acumulación de lípidos en varios tejidos donde no sería normal el almacenamiento de grasa.

La fisiopatología de la pancreatitis descrita por Jiménez et al. (2008) y Senosiain et al. (2013) se refiere a dos mecanismos. El primero incluye el daño directo de los ácidos grasos en el tejido pancreático, normalmente estos no son tóxicos cuando se encuentran unidos a la albumina pero, en el caso de existir hipertrigliceridemia, se supera la capacidad de la albumina para transportarlos, lo que aumenta su toxicidad, desencadenándose una respuesta enzimática en el páncreas tras su degradación por la lipasa endotelial y la lisolecitina en el tejido acinar (Jiménez et al., 2008).

Como segundo mecanismo se menciona a los quilomicrones, los cuales tienen la capacidad de obstruir la circulación distal del páncreas, causando así procesos isquémicos, que conllevan a que se presenten alteraciones en la arquitectura normal acinar, esto hace que se desencadene la respuesta inflamatoria ya que, al exponer el tejido pancreático a los triglicéridos, se activa la lipasa (Jiménez et al., 2008). Por último, se menciona que la presencia de ácidos grasos libres en altas concentraciones, los cuales tienden a crear un medio ácido, cambiando el pH del medio desencadenando la activación del tripsinógeno e iniciando la enfermedad (Jiménez et al., 2008).

En el estudio realizado todos los individuos se caracterizaron por poseer fibrosis de moderada a severa a nivel de los conductos interlobulares pancreáticos, acompañado de hiperplasia en los individuos 1478 y 1467, concordando en cuanto al término de pancreatitis crónica citado por (Thompson

et al., 2009; Detlefsen et al., 2005) ver en la (Figura 9). Los agregados inflamatorios concuerdan con la descripción de Thompson et al. (2009) en los individuos 1467 y 3087.

Se observaron alteraciones vasculares en todos los individuos, presentándose principalmente congestión de leve a severa y fibrosis alrededor de los vasos sanguíneos, agregado a esto, los individuos 1856 y 1133(2) presentaron edema.

4.1.2 Lesiones secundarias

De manera general, las alteraciones secundarias se presentaron en todos los animales. Los órganos con mayor número de alteraciones fueron el intestino grueso y páncreas, que a su vez presentaron mayor cantidad de alteraciones primarias. El órgano con menos alteraciones fue el esófago. En la figura 10 se puede visualizar el número de alteraciones secundarias halladas por órgano en forma porcentual. Todas las alteraciones descritas en la tabla 4 fueron de tipo leve y focal en el órgano, no pudiéndose determinar un diagnóstico específico, sin embargo, se demuestra un cuadro resumen de las alteraciones encontradas en los individuos de estudio.

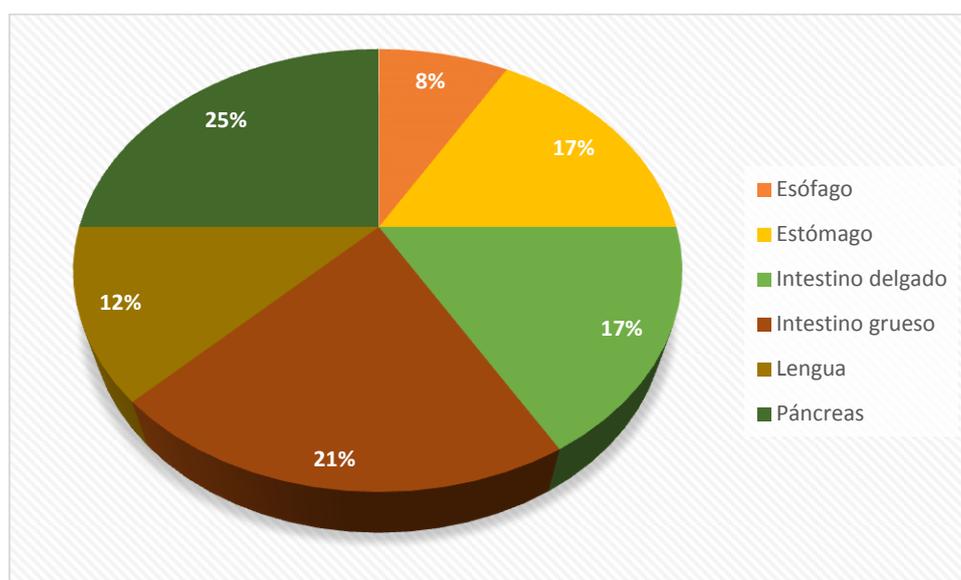


Figura 10. Representación porcentual de número de lesiones secundarias en órganos del tracto gastrointestinal.

Tabla 4

Lesiones secundarias en los órganos del tracto gastrointestinal de los anfibios objeto de estudio.

Órgano	Lesiones secundarias	Identificación individuo
Lengua	Presencia infiltrado basófilo .	3087
	Presencia de infiltrado basófilo y eosinófilo.	1133
	Congestión.	1478
Esófago	Congestión.	1478
	Degeneración hidrópica (Anexo 1).	1133(2)
Estómago	Congestión	1467
	Infiltrado basófilo y congestión (Anexo 2).	1856
	Desprendimiento de leve del epitelio de la mucosa multifocal.	1133(2)
Intestino delgado	Infiltrado basófilo.	2337,3087
	Congestión.	1467
	Presencia de melanomacrófagos.	2329
Intestino grueso	Congestión.	1995,1467
	Congestión con edema sumado a infiltrado basófilo y eosinófilo .	1995(2)
	Infiltrado basófilo y eosinófilo.	1478
	Infiltrado basófilo.	1133(2)
Páncreas	Congestión.	3087,1478
	Infiltrado basófilo.	1467
	Congestión y fibrosis alrededor de vasos sanguíneos.	2329
	Congestión más edema y fibrosis alrededor de los vasos.	1856
	Congestión y edema.	1133(2)

En cuanto a consideraciones finales, cabe acotar que la hipótesis planteada fue positiva, ya que se encontraron alteraciones histopatológicas primarias y otras secundarias en los diferentes órganos del tracto gastrointestinal de toda la población de estudio.

Todos los individuos de la población poseían el denominado Síndrome de Edema, siendo varios los agentes causales para que este se produzca. Según Pessier (2009), también pueden existir causas a nivel gastrointestinal que

desencadenen este síndrome, tales como parasitismos graves, esto debido a la hipoproteinemia que producen especialmente los parásitos hematófagos que se encuentran a nivel intestinal, tales como los estrogiloides, que afectan a muchos animales domésticos como silvestres (Trigo 2011). Los parasitismos graves desencadenan principalmente un edema de tipo generalizado ya que, al existir una baja de proteínas plasmáticas, especialmente la albumina, conlleva a que se disminuya la presión coloidosmótica u oncótica liberándose líquidos de manera anormal a los diferentes compartimentos orgánicos (Trigo y Valero, 2002).

En el presente estudio se pudo verificar la existencia de parasitismo, afectando a un 60% (6/10) de la población de estudio, sin embargo, en estos animales no se logró observar gran cantidad de agentes parasitarios afectando el tejido intestinal, por lo que se cree que no se puede atribuir a este como agente principal de la presencia de edema en estos animales.

4.2 Limitantes

Los anuros, así como otros animales, poseen una alta flexibilidad digestiva fenotípica, es decir, estos tienen la capacidad de cambiar su morfología general e histológica para adaptarse a los cambios ambientales tales como temperatura, frecuencia entre comidas, tipo de alimentación y composición del alimento. A consecuencia, el realizar un estudio comparativo en cuanto a histología con tan solo una especie resulta complicado, se requiere de mayor cantidad de fuentes de literatura y específicamente se requeriría realizar una comparación directa con anfibios de la familia *Hemiphractidae*, pero no existen en la actualidad.

Estudios descriptivos en cuanto a parásitos en tejidos de anfibios son muy escasos, las comparaciones realizadas se tuvieron que realizar en algunos casos siguiendo lo establecido por otros animales domésticos y humanos.

5 CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Mediante la caracterización histopatológica de órganos del tracto gastrointestinal utilizando los criterios básicos de lectura histopatología que son severidad, cronicidad y extensión, se evidenció alteraciones en todos los individuos y estas fueron principalmente alteraciones de tipo vascular e inflamatorias.

Los diagnósticos principales fueron determinados por la presencia de lesiones primarias, que fueron las alteraciones más trascendentales que causaban un daño significativo en cada órgano; los diagnósticos específicos incluyeron cuadros de glositis (1/10), enteritis (6/10) y pancreatitis (6/10).

Las lesiones secundarias fueron reportadas en todos los órganos de los individuos del estudio y se caracterizaron por ser alteraciones focales y leves de tipo vascular e inflamatorio.

El parasitismo afecta directamente en la dinámica poblacional de los individuos, si bien es cierto los parásitos pueden vivir en el individuo toda la vida sin que se observen alteraciones clínicas evidentes, bajo ciertas condiciones pueden causar daños significativos que pueden interferir directamente en cuanto al crecimiento y reproducción de los individuos, poniendo en riesgo los planes de conservación en las instituciones de cría *exsitu*.

La identificación exacta de los diferentes parásitos resulta difícil únicamente con el método diagnóstico de histopatología y solo se podría llegar al diagnóstico certero de los parásitos encontrados mediante otras pruebas diagnósticas más específicas, sin embargo, de acuerdo a las descripciones citadas por varios autores, se han podido identificar los siguientes: *Strongyloides sp*, *Oxyuris sp*, protozooario ciliado y *Protoopalina sp*. ubicados específicamente en intestino grueso.

La presentación de fibrosis en el páncreas es un proceso de tipo crónico y este fue ligado principalmente a una posible hipertrigliceridemia, que a su vez pudo haberse desencadenado por el mal manejo nutricional que estos individuos poseían.

5.2 Recomendaciones

Todos los individuos que se encuentran en vida silvestre o incluso mantenidos en centros de cría *ex situ* pueden ser hospedadores de diferentes especies de parásitos. Por lo cual, es preciso que mientras se realiza la cuarentena de los nuevos animales se tomen muestras de heces que deberán ser analizadas a juicio por clínicos veterinarios especializados, para así descartar la presencia de los mismos, tomar las medidas adecuadas y evitar la transmisión de los demás animales en la institución.

El manejo nutricional adecuado es un factor determinante para que anfibios en cautiverio puedan tener una vida saludable sin problemas, por lo cual es necesario que se tome en cuenta las necesidades nutricionales de cada individuo según su etapa de vida y suministrar a su vez una cantidad adecuada de alimento sin excesos.

Pocos son los estudios realizados en el Ecuador en cuanto a la prevalencia de parásitos en anuros mantenidos en cría *ex situ*, por lo que se sugiere que se realicen estudios detallados utilizando diferentes pruebas diagnósticas específicas, para así aportar con bases teóricas que contribuyan en la medicina de la conservación.

REFERENCIAS

- Acevedo, A., Silva, K., Franco, R. y Lizcano, D. (2011). Distribución, historia natural y conservación de una rana marsupial poco conocida, *Gastrotheca helenae* (Anura: Hemiphraactidae), en el Parque Nacional Natural Tamá, Colombia. *Boletín científico centro de museos*, 15(1), 68-74.
- Aguilar, R., Hernández, S., Divers, S. y Perpiñán, D. (2010). *Atlas de Medicina de Animales Exóticos* (2 ed.). Buenos Aires, Argentina: Intermedica.
- Almendáriz, A. y Orcés, G. (2004). Distribución de algunas especies de la herpetofauna de los pisos Altoandino, Temperado y Subtropical. *Revista Politécnica*, 1(25), 97-150.
- Aspinall, V. y O'reilly, M. (2004). *Introducción a la anatomía y fisiología veterinarias* (1 ed.). Zaragoza, España: Acribia.
- Barahona, A., Betancourt, R., Morales, M., Toral, E. y Valencia, J. (2008). *Guía de campo de Anfibios del Ecuador* (1 ed.). Quito, Ecuador: Fundación Herpetológica Gustavo Órces, Simbloec.
- Cano, V. y Rodríguez, M. (2008). Iniciativa Balsa de los sapos un plan estratégico para la investigación y conservación de los anfibios ecuatorianos en riesgo de extinción. *FIAT LUX*, 4(2), 73-84.
- Castro, J., Lima, S., Braga, G., Pinto, C. y Silva, A. (2008). Anatomohistología do esôfago da rã touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(1), 130-139.
- Claire, J., Wellehan, J., Owens, S., Gaffney, J., Childress, S., Groff, J. y Weber, S. (2014). Intraerythrocytic iridovirus in central bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(3), 354-364. doi: 10.1177/1040638714534851
- Clayton, L. (2005). Amphibian gastroenterology. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 8(2), 227-245. doi: 10.1016/j.cvex.2004.12.001

- Clayton, L. (2010). *Amphibian Clinical Medicine: Anuran edema*. Paper presented at the 61th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and 44th Annual Meeting of the American Society for Veterinary Clinical Pathology, Baltimore, Maryland, USA.
- Copete, M., Ginés, F. y Osorio, J. (2013). Principales helmintos encontrados en un centro de fauna cautiva en Colombia. *Boletín científico centro de museos museo de historia natural*, 17(1), 251-257.
- Chamizo, E. (1995). *Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos* (1 ed.). Baja California, México: Universidad autónoma de Baja California.
- Chasiluisa, V., Coloma, L., Frenkel, C. y Félix-Novoa, C. (2017). *Gastrotheca litonedis*. Recuperado el 24 de mayo del 2017 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1129>
- Chasiluisa, V., Frenkel, C., Vallejo, A., Félix-Novoa, C. y Ron, S. (2010a). *Gastrotheca riobambae*. Recuperado el 26 de mayo del 2017 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1136>
- Chasiluisa, V., Ron, S. y Frenkel, C. (2010b). *Gastrotheca pseustes*. Recuperado el 28 de febrero del 2017 de <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1134>
- Chinchilla, M., Guerrero, O., Gutiérrez, G. A., Sánchez, R. y Rodríguez, B. (2005). Parásitos intestinales en monos congo *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 53, 437-445.
- Detlefsen, S., Sipos, B., Feyerabend, B. y Klöppel, G. (2005). Pancreatic fibrosis associated with age and ductal papillary hyperplasia. *Virchows Archiv*, 447(5), 800-805. doi: 10.1007/s00428-005-0032-1
- Duellman, W., Maxson, L. y Jesiolowski, C. (1988). Evolution of Marsupial Frogs (Hylidae: Hemiphractinae): Immunological Evidence. *American*

- Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH)*, 1988(3), 527-543.
doi: 10.2307/1445371
- Dwight, D. (2013). *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (10 ed.). St. Louis , USA: Elsevier.
- Entidhar, M., Baydaa, H. y Iman, S. (2014). Morphological and Histological Description of the Tongue in the Frog *Rana ridibunda* *Dylaya journal for pure sciences*, 10(3), 1-11.
- Estrada, E. y Uribe, M. (2002). *Atlas de histología de vertebrados* (1 ed.). Universitaria, México: Universidad Autonoma de México.
- Fidalgo , L., Rejas, J., De Gopegui, R. y Ramos, J. (2003). *Patología médica veterinaria: libro de texto para la docencia de la asignatura* (1 ed.). Zaragoza, España: Universidad de Zaragoza.
- Forzán, M., Jones, K., Whittington, R., Wood, J., Markham, R. y Daoust, P. (2017). Pathogenesis of Frog Virus 3 (Ranavirus, Iridoviridae) Infection in Wood Frogs (*Rana sylvatica*). *Veterinary Pathology*, 54(3), 531-548. doi: 10.1177/0300985816684929
- Gallego-Huidobro, J., Pastor, L. y Calvo, A. (1992). Histology of the esophagus of the adult frog *Rana perezi* (Anura: Ranidae). *Journal of Morphology*, 212(3), 191-200. doi: 10.1002/jmor.1052120302
- Goodman, G. (2003). Oral biology and conditions of amphibians. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 6(3), 467-475. doi: 10.1016/S1094-9194(03)00031-8
- Grant, M. (2007). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals* (5 ed.). Edinburgh, Scotland: Saunders.
- Gutierrez, Y. (2000). *Diagnostic Pathology of Parasitic Infections with Clinical Correlations* (2 ed.). New York, USA: Oxford University Press.
- Hadfield, C., Clayton, L. y Barnett, S. (2006). Nutritional Support of Amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 15(4), 255-263. doi: 10.1053/j.jepm.2006.09.004
- Jiménez , S., Roa , D. y Villalba, M. (2008). Pancreatitis aguda secundaria a hipertrigliceridemia: presentación de dos casos clínicos. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(6), 367-371.

- Kostka, M. (2016). Opalinata. In J. Archibald, A. Simpson, C. Slamovits, L. Margulis, M. Melkonian, D. Chapman y J. Corliss (Eds.), *Handbook of the Protists* (pp. 1-23). Cham: Springer International Publishing.
- Kota, S., Krishna, S., Lakhtakia, S. y Modi, K. (2013). Metabolic pancreatitis: Etiopathogenesis and management. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(5), 799-805. doi: 10.4103/2230-8210.117208
- Kozubsky, L. y Archelli, S. (2004). Consideraciones sobre la biología y el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis*. *Acta bioquím. clín. latinoam.*, 28(3), 333-338.
- Madhusree, G., Rupendu, R. y Probir, K. (2011). *Protoopalina andulensis and Protoopalina limnocharis (Protozoa : Slopalinida) with a note on their heterospecific association with anuran host of West Bengal, India*. Paper presented at the Proceedings of the 22nd National Congress on Parasitology, West Bengal, India.
- Marcato, J. (2010). *Pancreatite em cães*. (Tesis de Pregrado). Universidade Federal do Rio Grande do sul., Porto Alegre-Brasil.
- Marschang, R., Braun, S. y Becher, P. (2005). Isolation of a ranavirus from a gecko (*Uroplatus fimbriatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(2), 295-300. doi: 10.1638/04-008.1
- Mayer, J. y Donnelly, T. (2013). *Clinical Veterinary Advisor, Birds and Exotic Pets: Clinical Veterinary Advisor* (1 ed.). United States of America: Elsevier.
- McWilliams, D. (2008). Nutrition Recommendations for some Captive Amphibian Species (Anura and Caudata) Recuperado el 27 de febrero del 2017 de <http://www.amphibianark.org/pdf/Husbandry/amphibian%20nutrition%20report%20CAZA%202008.pdf>
- Mehlhorn, H., Duwel, D. y Raether, W. (1994). *Manual de parasitología veterinaria* (1 ed.). Bogota, Colombia: GRASS-IATROS.
- O'Rourke, D. y Rosenbaum, M. (2015). Biology and Diseases of Amphibians In L. Anderson, G. Otto, K. Pritchett-Corning y M. Whary (Eds.), *Laboratory Animal Medicine* (pp. 931-965). Boston: Academic Press.

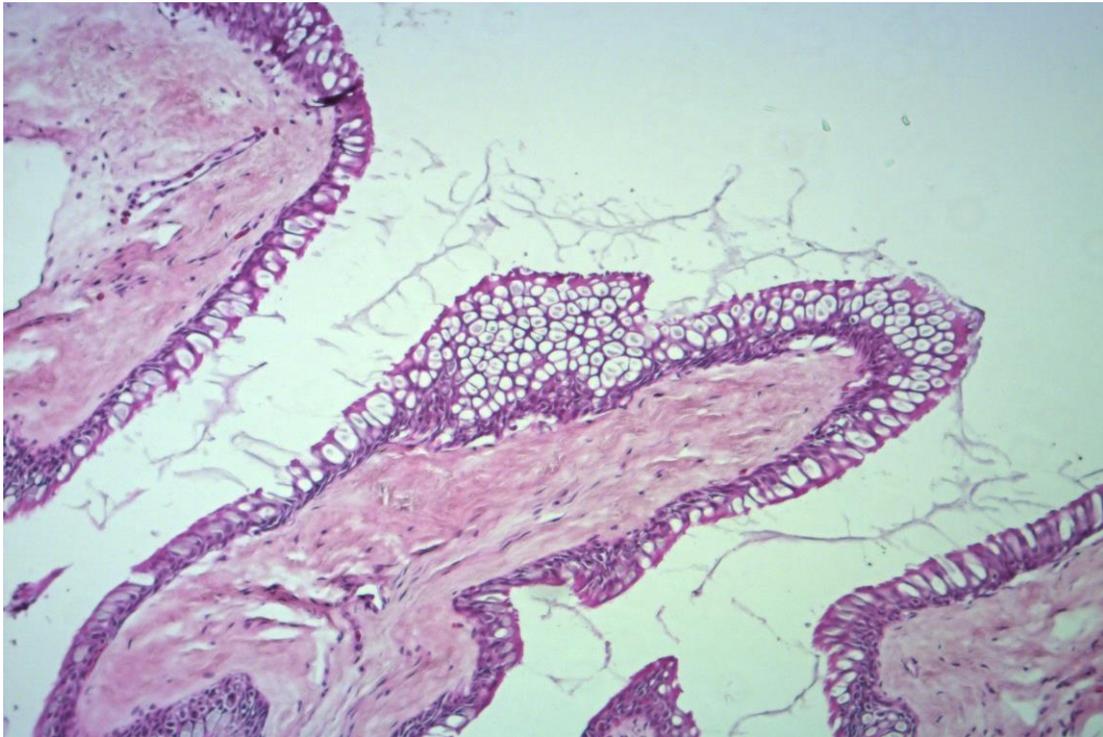
- Patterson-Kane, J., Eckerlin, R., Lyons, E. y Jewell, M. (2001). Strongyloidiasis in a cope's grey tree frog (*Hyla chrysoscelis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(1), 106-110. doi: 10.1638/1042-7260(2001)032[0106:SIACSG]2.0.CO;2
- Paula, C. (2011). *Patologia comparada de infecções selecionadas de anfíbios anuros de vida livre do bioma da Mata Atlântica: estudo prospectivo*. (Doctoral Thesis). University of São Paulo, São Paulo-Brasil.
- Pessier, A. (2008). Amphibian nutrition AZA professional training program: Amphibian biology , conservation and management. Recuperado el 15 de mayo del 2017 de http://www.amphibianark.org/pdf/Husbandry/ABCM_Pessier_Amphibian_Nutrition.pdf
- Pessier, A. (2009). Edematous Frogs, Urinary Tract Disease, and Disorders of Fluid Balance in Amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(1), 4-13. doi: 10.1053/j.jepm.2008.10.003
- Pessier, A., Baitchman, E., Crump, P., Wilson, B., Griffith, E. 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
- Quiroz, H. (2013). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos* (1 ed.). México, México DF.: Limusa
- Quishpe , P. (2016). *Caracterización histopatológica de órganos afectados por síndrome de edema en ranas de la especie Gastrotheca spp. provenientes de cautiverio de la Institución Balsa de Sapos*. (Tesis de Pregrado). Universidad de las Américas, Quito-Ecuador.
- Ron, S., Guayasamin, J., Yanez-Muñoz, M., Merino-Viteri, A. y Nicolalde, D. (2017). División de Anfibios del Museo de Zoología de la PUCE. Recuperado el 25 de mayo del 2017 de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador/DiversidadEndemismo.aspx>
- Senosiain , C., Tavío , E., Moreira , V., Maroto , M., García , M., Aicart , M., . . . Cuño , J. (2013). Pancreatitis aguda por hipertrigliceridemia.

- Gastroenterología y Hepatología*, 36(4), 274-279. doi: 10.1016/j.gastrohep.2012.11.006
- Sonsoles, M. (1997). *Contribución al conocimiento de la parasito fauna de la Rana perezii seoane 1885 (Amphibia: Ranidae) de la provincia de Ávila*. (Tesis de doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid-España.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman, D. L. y Waller, R. W. (2004). Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, 306(5702), 1783-1786. doi: 10.1126/science.1103538
- Thompson, L. J., Seshadri, R. y Raffe, M. R. (2009). Characteristics and outcomes in surgical management of severe acute pancreatitis: 37 dogs (2001–2007). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 19(2), 165-173. doi: 10.1111/j.1476-4431.2009.00401.x
- Trigo, F. (2011). *Patología sistémica veterinaria* (5 ed.). México, México D.F: McGraw-Hill Interamericana.
- Trigo, F. y Valero, G. (2002). *Patología general veterinaria* (3 ed.). México McGrawHill.
- UICN. (2017). The IUCN Red List of Threatened Species. Recuperado el 12 de mayo del 2017 de <http://www.iucnredlist.org/details/summary/55357/0>
- Vannevel, J. (2006). Glomerulonephritis and Anasarca in a Colony of Frogs. *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
- Vitt, L. y Caldwell, J. (2014). *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. London, UK: Elsevier.
- Wake, D. y Vredenburg, V. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the*

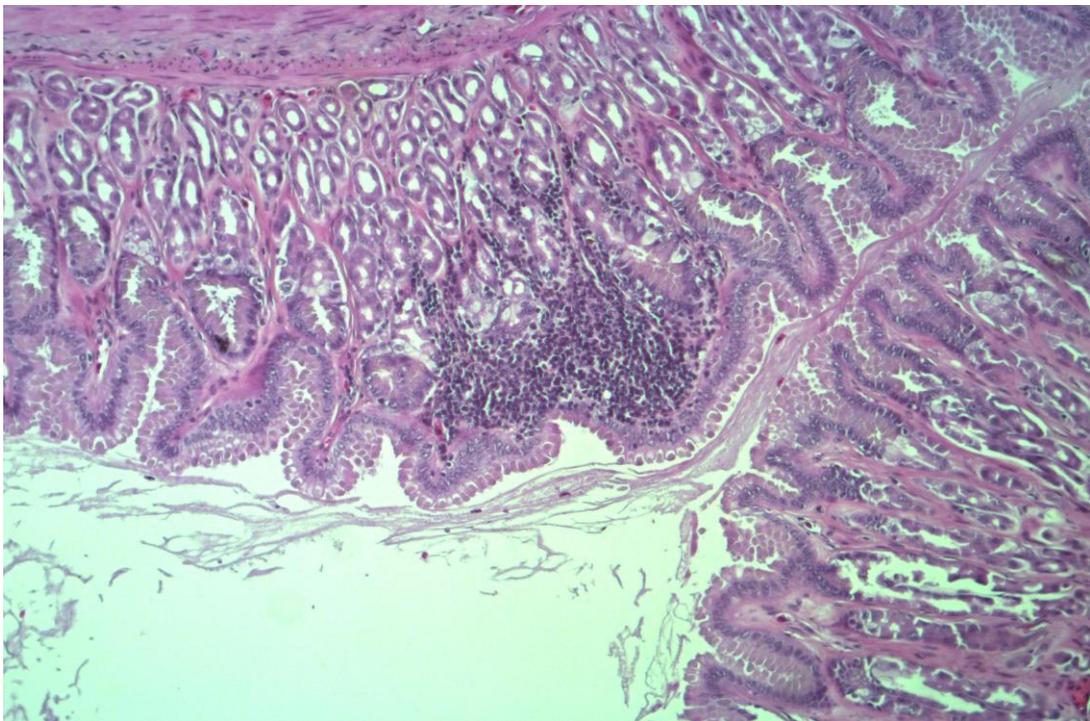
- National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11466-11473. doi: 10.1073/pnas.0801921105
- Wells, K. (2007). *The Ecology and Behavior of Amphibians* (1 ed.). United States of America The University of Chicago Press.
- Wiechmann, A. y Wirsig-Wiechmann, C. (2003). *Color Atlas of Xenopus laevis Histology*. New York: Springer Science.
- Womble, M., Pickett, M. y Nascone-Yoder, N. (2016). Frogs as integrative models for understanding digestive organ development and evolution. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 51, 92-105. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.02.001
- Wright, K. y Whitaker, B. (2001). *Amphibian medicine and captive husbandry* (1 ed.). Pennsylvania, USA: Krieger Publishing Company.
- Zachary, J., McGavin, M., Ackermann, M. y Brown, D. (2011). *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (5 ed.). Missouri, USA: Elsevier Science Health Science Division.

ANEXOS

Anexo 1. Lesión secundaria esófago. Presencia de una degeneración hidrópica focal a nivel de la mucosa. Microfotografía esófago (H y E). *Gastrotheca litonedis*, 1133(2). 40x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.



Anexo 2. Lesión secundaria estómago. En la región fúndica del estómago se observa en la lámina propia un infiltrado basófilo focal leve. Microfotografía estómago (H y E). *Gastrotheca pseustes*, 1856-12. 40x. Tomado de Genoy-Puerto., A, 2017.



Anexo 3. Patente de Manejo de Vida Silvestre 2017, No. 007-2017-FAU-DPAP-MA.

MINISTERIO DEL AMBIENTE
DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE PICHINCHA



**PATENTE DE MANEJO DE VIDA SILVESTRE
2017**



Número:
007-2017-FAU-DPAP-MA

Lugar y Fecha:
Quito, 27 de marzo de 2017

La Dirección Provincial del Ambiente Pichincha del Ministerio del Ambiente, en uso de las atribuciones que le confiere la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre, autoriza a Fernando Ponce León, Representante legal de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, con C.C. N° 1801667476, para que realice el manejo en cautiverio de especímenes de anfibios silvestres en el **Centro de Investigación y Conservación de Anfibios (CICA)**, bajo la categoría de **Centro de Rescate, sin fines comerciales**, de acuerdo con el siguiente detalle:

1. Solicitud de renovación de patente presentada por: Andrés Merino-Viteri, Ph.D. Director del Centro de Investigación y Conservación de Anfibios, de la PUCE, mediante comunicación de 19 de enero de 2017.
2. Valoración del informe: Ing. Diego Morillo G.
3. Inspección realizada el 24 de febrero de 2017 por Ing. Diego Morillo G.
4. Complementos de manejo autorizados: investigación, educación y conservación.
5. Contraparte institucional y responsabilidad técnica delegada a: Unidad de Patrimonio Natural, de la Dirección Provincial del Ambiente Pichincha. M.A.E.
6. Duración: 27 de marzo de 2017 al 26 de marzo de 2018.
7. Obligaciones del beneficiario:
 - a) Llevar un registro completo, actualizado de las especies de anfibios silvestres manejadas.
 - b) Facilitar información y permitir el acceso de los funcionarios del Ministerio del Ambiente a sus instalaciones para el respectivo control.
 - c) Presentar el informe de actividades y plan operativo anual para la renovación de la patente y aquella que fuera requerida por la autoridad en el transcurso de la patente.
 - d) Cumplir las especificaciones relacionadas con la patente, que se detallan al reverso.

Lic. Rafael Mera Cuví

DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE PICHINCHA – Encargado.

Dirección Provincial del Ambiente Pichincha. Av. Amazonas N24 - 196 y calle Luis Cordero,
Edificio CONTEMPO, 3º piso. Quito - Ecuador
Telefax (593-2) 3816-230
www.ambiente.gob.ec

**ESPECIFICACIONES DE LA PATENTE DE MANEJO DE VIDA SILVESTRE
007-2017-FAU-DPAP-MA**

1. Se autoriza el manejo de especímenes de anfibios de la fauna silvestre ecuatoriana, en el "Centro de Investigación y Conservación de Anfibios (CICA)", bajo la categoría de Centro de Rescate, sin fines comerciales.
2. Se autoriza el manejo de los especímenes de anfibios, corresponden a la base de datos presentada, mediante solicitud de renovación de patente de manejo de vida silvestre del CICA, de fecha 19 de enero de 2017. Cualquier cambio deberá ser comunicado a la Dirección Provincial del Ambiente Pichincha, del Ministerio del Ambiente.
3. Se autoriza el manejo de especímenes de anfibios silvestres, exclusivamente con fines de investigación, educación y conservación / reintroducción al medio natural en coordinación con la Dirección Provincial del Ambiente Pichincha, del Ministerio del Ambiente.
4. El "CICA", NO está autorizado a comercializar, especímenes de anfibios silvestres que se encuentran bajo su mantenimiento y manejo.
5. Se autoriza la colección de especímenes, previa presentación de un programa de colección o solicitud de investigación.
6. El "CICA", podrá realizar intercambios de los especímenes que se encuentran bajo su manejo, con otros centros de rescate similares del país, con fines de investigación y conservación, previa aprobación de la Dirección Provincial del Ambiente Pichincha, emitida por escrito.
7. La movilización de especímenes que realice el "CICA", referente a las colecciones que mantiene, requerirán autorización de la Dirección Provincial del Ambiente Pichincha del MAE.
8. Las investigaciones y tesis que se realicen con los especímenes manejados en el "CICA", requerirán autorización del Ministerio del Ambiente. Para el efecto deberá cumplir con lo establecido en las normativas legales vigentes.
9. Los especímenes manejados no podrán ser utilizados como recurso genético, ni para actividades de bioprospección.
10. El incumplimiento de las disposiciones legales, técnicas y administrativas, por parte del "CICA", será motivo de suspensión de la presente patente y la aplicación de las sanciones previstas en la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre.
11. Para la emisión de la presente patente, el Centro de Rescate está exonerado del pago de tasa ambiental conforme al Libro IX del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, Edición Especial No. 2, publicado en el Registro Oficial de 31 de marzo del 2003.

Dirección: Av. 12 de Octubre 1076 y Roca
Apartado postal: 17-01-2184
Teléfono: 2991-700 Ext. 1250
Correo-e: armerino@puce.edu.ec

RM/JVDM
27-03-2017



