



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

POSIBLES CAUSAS DE MUERTE EN ANFIBIOS *ATELOPUS LIMON* DEL
AÑO 2014 MEDIANTE NECROPSIA E HISTOPATOLOGÍA EN EL CENTRO
DE CONSERVACIÓN “LA Balsa DE LOS SAPOS”

Autora

Yessenia Lizeth Alvear Santos

Año
2018



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

POSIBLES CAUSAS DE MUERTE EN ANFIBIOS *ATELOPUS LIMON* DEL
AÑO 2014 MEDIANTE NECROPSIA E HISTOPATOLOGÍA EN EL CENTRO
DE CONSERVACIÓN “LA Balsa DE LOS SAPOS”

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

Profesor guía

Elmer Alexander Genoy-Puerto

Autora

Yessenia Lizeth Alvear Santos

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo, Posibles causas de muerte en anfibios *Atelopus limon* del año 2014 mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación “La Balsa de los Sapos”, a través de reuniones periódicas con el estudiante, Yessenia Lizeth Alvear Santos, en el décimo semestre, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Elmer Alexander Genoy-Puerto
Médico Veterinario
CI: 1757589278

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Posibles causas de muerte en anfibios *Atelopus limon* del año 2014 mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación “La Balsa de los Sapos”, de Yessenia Lizeth Alvear Santos, en el décimo semestre, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los trabajos de titulación”

Carlos Alfonso Paz Zurita
Médico Veterinario
CI. 1702531748

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

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

Yessenia Lizeth Alvear Santos

CI: 1716344419

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por ser mis mejores amigos y apoyarme siempre.

Al Dr. Alexander Genoy-Puerto por guiarme durante la investigación.

A la Dirección General de Investigación de la Universidad de Las Américas por el apoyo económico.

A la Dirección de Laboratorios LACBYQ por el apoyo logístico.

DEDICATORIA

A Dios y a todos los seres de luz que
creyeron en mí.

Gracias a todos.

RESUMEN

La muerte en cautiverio de anfibios que se encuentran en peligro de extinción es muy concurrente en los centros de conservación. Este problema puede ser ocasionado por el desconocimiento sanitario en el que se encuentran las poblaciones, incidiendo negativamente en los programas de conservación y posterior reintroducción. En el Ecuador, la iniciativa de conservación “Balsa de los Sapos” mantiene en cautiverio a ranas de la especie *Atelopus limon* que actualmente se encuentran en un significativo declive poblacional en vida silvestre, haciendo de esta especie un candidato óptimo para la conservación en cautiverio. Sin embargo, durante el proceso de cría *ex situ*, se está produciendo la muerte de estos ejemplares y las causas no llegan a ser diagnosticadas. El siguiente estudio histopatológico se realizó en 14 individuos (11 hembras y 3 machos), los cuales murieron en el 2014. A los individuos se les realizó un examen físico general, biometría y posteriormente se procedió a la necropsia. Muestras de todos los órganos fueron tomadas y conservadas en formalina bufferada al 10% para posterior realización de las láminas histológicas. Análisis y lectura de los hallazgos histopatológicos principales y secundarios fueron realizados con microscopia de luz. Las lesiones se clasificaron en primarias, secundarias y se caracterizaron como circulatorias, degenerativas, inflamatorias de origen infeccioso y no infeccioso y se manifestaron de forma aguda y crónica. Las posibles causas de muerte en esta población se produjeron por choque cardiogénico el 71.43% (10/14), el 21.43% (3/14) por un choque hipovolémico y el 7.14 (1/14) fue indeterminado. Mientras que, en órganos secundarios resalta la presencia de *Entamoeba* spp. 14.28% (2/14) y *Batrachochytrium dendrobatidis* 21.43% (3/14). Este estudio nos permitió conocer el origen de las causas *mortis* y estas se relacionaron con una compensación fisiológica a una hipoxia ambiental, hiperemia, hemorragia y agentes infecciosos que afectan a esta población durante el cautiverio.

ABSTRACT

It is common to find dead amphibians who are in danger of extinction and live in conservation centers. This problem can occur from not knowing their hygiene status, which affects in a negative way on the conservation programs and subsequently during their reintroduction. In Ecuador there is a conservation initiation called "Balsa de Sapos" which keeps in captivity the frog species known as *Atelopus limon* that currently find itself in wild life decline, making them optimal for captivity conservation. However, during the *ex situ* breeding process, death is occurring to this species of amphibian and the causes of it do not reach a diagnosis. The histopathological study was performed on 14 individuals (11 females and 3 males) which died in 2014. The tests that were performed on the individuals were a general physical examination, biometry and subsequently a necropsy. Samples from every organ were taken and conserved in buffered formaline at 10% for later making histological plates. The findings from the principal and secondary histopathological analysis and lecture were done by light microscopy. The injuries were classified in primary, secondary and to be characterized as circulatory, degenerative, inflammatory of infectious and non-infectious origin and manifested acutely and chronically. The possible dead causes for this population were 71.42% (10/14) by cardiogenic shock, 21.43% (3/14) by hypovolemic shock and 7.14 (1/14) were undertermined. The secondary organs presented *Entamoeba* spp. which were the 14.28% (2/14) and *Batrachochytrium dendrobatidis* 21.43% (3/14). This study allowed us to know the origin of the causes mortis and these were related to a physiological compensation to an environmental hypoxia, hyperemia, hemorrhage and infectious agents that affect this population during the captivity.

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 Características generales de los anuros.....	4
2.2 Características generales de los Atelopus limon	4
2.3 Taxonomía	4
2.4 Características anatómicas y fisiológicas	5
2.4.1 Respiración y piel.....	5
2.4.2 Sistema digestivo	5
2.4.3 Sistema circulatorio	6
2.4.4 Sistema linfático	6
2.4.5 Sistema genitourinario.....	7
2.4.6 Sistema reproductor	7
2.4.7 Sistema músculo-esquelético.....	8
2.4.8 Sistema endócrino.....	8
2.4.9 Sistema nervioso y sensorial.....	9
2.3 Anuros en cautiverio y manejo.....	10
2.3.1 Condiciones ambientales de los anuros en cautiverio.....	10
2.3.2 Manejo sanitario en cautiverio en los anuros	11
2.3.3 Desinfección y cambio de agua	11
2.3.4 Alimentación en cautiverio de anuros.....	12

2.3.5 Presencia de enfermedades en anfibios	12
2.4 Necropsia	13
2.5 Histopatología	14
3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1 Área de estudio	15
3.2 Muestra poblacional	15
3.3 Evaluación física y biométrica.....	15
3.4 Necropsia e histopatología	16
3.4.1 Necropsia	16
3.4.2 Toma de muestras	17
3.4.3 Histopatología	17
3.4.4 Análisis de los datos.....	18
3.5 Diseño experimental.....	18
3.5.1 Hipótesis	18
3.5.2 Diseño experimental.....	18
3.5.2.1 Clasificación de las causas de muerte.....	19
3.6 Análisis estadístico.....	21
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1 Información general.....	22
4.2 Principales hallazgos de los órganos principales.....	25
4.2.1 Principales diagnósticos en corazón	25
4.2.1.1 Insuficiencia cardíaca congestiva	26
4.2.1.2 Rabdomioma	31
4.2.2 Diagnósticos principales riñón.....	34

4.2.2.1	Glomerulonefritis membranosa con nefritis tubulointersticial.....	35
4.2.2.2	Glomerulonefritis membranoproliferativa con nefritis.....	39
4.2.2.3	Carcinoma renal	41
4.2.3	Diagnósticos principales en pulmón	44
4.2.3.1	Neumonía proliferativa crónica, congestión y edema	45
4.2.3.2	Enfisema alveolar	48
4.2.3.3	Hemorragia pulmonar	50
4.2.4	Diagnósticos principales en hígado.....	51
4.2.4.1	Congestión y edema hepático	52
4.3.	Principales hallazgos de los órganos secundarios.....	54
4.3.1	Sistema respiratorio	54
4.3.1.1.	Diagnósticos principales en tráquea	54
4.3.1.1.1	Hipoplasia traqueal	55
4.3.2	Sistema gastrointestinal	56
4.3.2.1	Diagnósticos principales lengua	56
4.3.2.1.1	Congestión y edema en lengua.....	57
4.3.2.2	Diagnósticos principales esófago	58
4.3.2.3	Diagnósticos principales estómago	59
4.3.2.3.1	Gastritis leve	59
4.3.2.4	Diagnósticos principales intestino delgado	62
4.3.2.5	Diagnóstico intestino grueso.....	62
4.3.2.5.1	Enteritis parasitaria	63
4.3.3	Glándulas adosadas al sistema gastrointestinal	65
4.3.3.1	Diagnósticos principales vesícula biliar	65
4.3.3.1.1	Fibrosis en la lámina propia	65
4.3.3.2	Diagnósticos principales páncreas	67

4.3.3.3 Diagnósticos principales bazo	68
4.3.3.3.1 Depleción de la pulpa roja.....	69
4.3.3.3.3 Depleción linfoide	70
4.3.4 Sistema músculo-esquelético.....	71
4.3.4.1 Hueso	71
4.3.4.1.1 Alteraciones en tejido óseo vertebral	72
4.3.4.1.2 Alteraciones en agujero vertebral y médula	73
4.3.4.1.3 Alteraciones en el cuerpo vertebral.....	75
4.3.4.1.4 Alteraciones en apófisis transversas	76
4.3.4.1.5 Alteraciones en músculo paravertebral	77
4.3.4.2 Músculo	81
4.3.4.2.1 Miopatía	81
4.3.5 Sistema tegumentario	83
4.3.5.1 Piel.....	83
4.3.5.1.1 Hiperplasia difusa e hiperqueratosis multifocal leve.....	84
4.4 Causas de muerte	86
4.4.1 Choque cardiogénico	88
4.4.2 Fallas multiorgánicas y colapso cardiorespiratorio	93
4.4.3 Choque Hipovolémico	95
4.4.4 Causa de muerte indeterminada	98
4.5 Limitantes	98
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	100
5.1 Conclusiones.....	100
5.2 Recomendaciones.....	102
REFERENCIAS.....	104

ANEXOS	113
--------------	-----

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La gran biodiversidad de fauna que posee el Ecuador le permite ser el tercer país con mayor diversidad de anfibiofauna a nivel mundial, siendo categorizadas 577 especies hasta el año 2016 (Museo de Zoología QCAZ, 2016). La conservación de los anfibios endémicos ecuatorianos es de suma importancia, ya que son bioindicadores, controladores de plagas y mantienen el equilibrio trófico en sus hábitats naturales (Peña, 2010). Sin embargo, en la actualidad el declive de sus poblaciones han ubicado a 154 especies en peligro de extinción, esto debido a la pérdida de hábitats, contaminación, presencia de especies invasoras y la aparición de enfermedades (Ministerio del Ambiente Ecuador, 2015).

En el Ecuador, la especie *Atelopus limon* se encuentra en un significativo declive poblacional en vida silvestre, haciendo que sea importante la creación de programas de conservación, reproducción y reintroducción, por lo que, en el centro de conservación “Balsa de los Sapos” se realiza su cría *ex situ*, con el objetivo de mantener en equilibrio las poblaciones en los ecosistemas que la albergan (Museo de Zoología QCAZ, 2016). Pero, posiblemente a causa del desconocimiento apropiado de manejo, mala adaptabilidad a la altura e incluso la presencia de agentes infecciosos, está ocurriendo comúnmente la muerte de estos ejemplares en cría *ex situ* y las causas de muerte no llegan a ser precisadas. Este tipo de situaciones están afectando directamente a los objetivos de los proyectos de conservación y de reintroducción de estas especies.

Llevando en consideración lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar anatomopatológicamente las alteraciones relevantes en los órganos principales y secundarios de los *Atelopus limon* que murieron en el periodo de 2014, para así poder determinar las posibles *causa mortis* durante el cautiverio e inferir en las condiciones sanitarias y ambientales que presentan los animales en ese periodo.

Por otro lado, con anterioridad en el Centro de Conservación se han realizado estudios utilizando histopatología como herramienta diagnóstica, en los cuales se caracterizaron órganos vinculados con el síndrome de edema, en donde se encontraron lesiones vasculares, celulares degenerativas e inflamatorias; derivados en procesos crónicos y agudos, además presencia de microorganismos como parásitos, hongos y bacterias en anfibios de la especie *Gastrotheca riobambae* (Quishpe, 2016). También, fueron caracterizados procesos de deformación ósea en individuos que presentaban signos de escoliosis, desviación de columna, deformación en extremidades y vertebras mediando imagenología e histopatología, los animales presentaron el 90% deformación ósea avanzada y el 10% de deformación ósea inicial, en anfibios de la especie *Agalychnis spurrelli* (Ortega, 2016).

Los trabajos de investigación anteriormente mencionados poseen información importante que sirve de base y guía para conocer el estado general sanitario en que se encuentran las poblaciones en cautiverio y determinar las posibles causas de muerte y el perfil sanitario completo en el estudio a desarrollarse.

Además, de haberse desarrollado y fortalecido técnicas de diagnóstico en anfibios en el ámbito de la medicina de la conservación para la preservación de especies endémicas en cautiverio, este trabajo forma parte del proyecto entre la Universidad de Las Américas y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), titulado “Patología comparada de procesos no infecciosos e infecciosos de anfibios ecuatorianos en cautiverio”. Este estudio, sigue las directrices del plan estratégico 2013-2017 de la Universidad de Las Américas; al asegurar la calidad académica, vinculando a los estudiantes a la generación de investigación y publicaciones científica (Universidad de Las Américas, 2013).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Determinar las posibles causas de muerte de anuros de la especie *Atelopus limon* en la Balsa de Sapos que murieron en el 2014, mediante la descripción de los hallazgos histopatológicos, para así inferir en las condiciones sanitarias que han afectado a esta población durante una línea temporal en cautiverio.

1.1.2 Objetivos específicos

Identificar macroscópicamente las lesiones presentes en los órganos.

Caracterizar los hallazgos histopatológicos principales y secundarios presentes en los órganos y tejidos de acuerdo a su extensión, severidad y cronicidad.

Identificar la causa de muerte de los individuos de acuerdo a los diagnósticos principales obtenidos de la caracterización anatomopatológica, las historias clínicas y establecer si estas son de tipo infeccioso, no infeccioso o metabólico.

2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Características generales de los anuros

Los anuros son animales ectotérmicos que viven en dos medios en el transcurso de toda la vida. Al inicio en la etapa larvaria; en donde no poseen extremidades anteriores y posteriores para movilizarse en tierra, habitan en un entorno acuático y su respiración es completamente branquial. Posteriormente, cuando llegan al proceso de metamorfosis para convertirse en adultos, los anuros poseen estructuras locomotoras; estas les permiten transportarse por tierra, su respiración es pulmonar y su dieta diaria es básicamente carnívora (Vitt & Caldwell, 2014).

2.2 Características generales de los *Atelopus limon*

El *Atelopus limon* es conocido como Arlequín de limón. Es una rana de color negro con franjas amarillas y el vientre naranja. Una de las particularidades importantes de estos anfibios es la producción de sustancias tóxicas por medio de la piel; la cual es usada como un sistema de protección en contra de sus depredadores (Peña, 2010).

Por otro lado, los *Atelopus* son diurnos, terrestres arborícolas y son más activos cuando influye la humedad; especialmente en los días de lluvia ligera, donde estos van hacia las grietas y raíces para conseguir su alimento, el cual se basa principalmente en hormigas y escarabajos (Peña, 2010).

Los machos adultos, llegan a medir 33 mm y viven cerca a la orilla del río, mientras que las hembras miden 44 mm y la mayor parte del tiempo habitan en las laderas y bajan solamente en época de reproducción (Peña, 2010).

2.3 Taxonomía

Los *Atelopus* representan un grupo diverso dentro del entorno neotropical y cuenta con 89 especies conocidas. En el año 2003, fue localizada una nueva especie silvestre, el *Atelopus limon* en la provincia de Morona Santiago, en las

orillas del Río Napizana a 1100 msnm, en el suroriente ecuatoriano y pertenece al reino animalia, filo cordata, clase amphibia, familia bufoniae, especie *Atelopus limosus* (Peña, 2010; Puschendorf et al., 2005).

2.4 Características anatómicas y fisiológicas

A continuación, se describirá las características anatómicas y fisiológicas anuros.

2.4.1 Respiración y piel

La respiración se produce por el ingreso del oxígeno hacia a los sacos pulmonares; en donde se produce el intercambio gaseoso, pero además de los pulmones, la piel también se encarga de esta función; al ser anatómicamente muy irrigada, así permitiendo el transporte de oxígeno hacia todos los tejidos del organismo (Vitt & Caldwell, 2014).

Por otro lado, la piel es encargada de la protección y la hidratación, gracias a la presencia de glándulas que le permiten ser un medio permeable para el ingreso de oxígeno y agua; como parte del equilibrio homeostático. Por lo consiguiente, estas particularidades hacen de la piel una vía bastante permeable incluso para el ingreso de diferentes sustancias como medicamentos, tóxicos, patógenos, entre otros. Así, estas características hacen de los anfibios una especie muy vulnerable y selectiva en los medios en donde habitan (Vitt & Caldwell, 2014)

2.4.2 Sistema digestivo

Se encuentra compuesto inicialmente por boca y lengua, en donde se realiza la masticación y deglución de los alimentos; los cuales son transportados hacia el estómago a través del esófago. La funcionalidad del estómago es completamente enzimática para la digestión de los alimentos de origen proteico. Seguidamente, se encuentra la porción duodenal del intestino; lugar donde se produce la absorción de los nutrientes, además en esta zona se

encuentra localizado el conducto pancreático y el páncreas adosado; el cual es encargado de la producción de enzimas digestivas (Wright & Whitaker, 2001).

Hace parte del tracto digestivo el hígado, órgano muy importante para la función de la digestión, almacenamiento, eliminación de sustancias tóxicas. En el lóbulo izquierdo del hígado se encuentra conectada la vesícula biliar, órgano donde se almacena la bilis; la cual es muy necesaria para la digestión de lípidos (Wright & Whitaker, 2001).

Para concluir, en la porción final del sistema digestivo se encuentra el intestino grueso, en el cual se realiza la reabsorción de líquidos y además el almacenamiento de los desechos del organismo como parte de la digestión (Wright & Whitaker, 2001).

2.4.3 Sistema circulatorio

En los anfibios, el sistema circulatorio es de tipo cerrado, doble e incompleto. Se conforma por el corazón, el cual se encuentra compuesto por dos aurículas y un ventrículo. Este órgano tiene una presión sistólica de 32 mmHg, y una diastólica de 21 mmHg y el volumen cardíaco presente es de 20-30 (mL/Kg.min) (Hill, Wyse, & Anderson, 2006). Además, el sistema circulatorio cuenta con vasos sanguíneos que son encargados de distribuir el oxígeno, los nutrientes y otras moléculas a los tejidos en el organismo de los anfibios (Wiechmann & Wirsing-Wiechmann, 2003).

2.4.4 Sistema linfático

Los órganos linfáticos son el bazo, los ganglios linfáticos y las células de defensa, los cuales son encargados de la protección de agentes externos que pueden presentarse dentro del organismo, como es el caso de bacterias, virus y parásitos (Wiechmann & Wirsing-Wiechmann, 2003).

2.4.5 Sistema genitourinario

Este sistema se encuentra conformado por riñones, uréteres, vejiga urinaria y uretra. Cabe destacar que, debido a que son animales muy propensos a la deshidratación, los anfibios tienen riñones elongados, lo que les permite tener conductos colectores más largos, esto a su vez amplia funcionalidad para la reabsorción del agua de acuerdo a los requerimientos y la eliminación de los iones innecesarios (Vitt & Caldwell, 2014).

Los desechos nitrogenados en orina de anuros son principalmente amoníaco, urea o ácido úrico; esto depende del ambiente en que habitan. Los anuros acuáticos excretan la mayoría de sus residuos nitrogenados como amoníaco, mientras que las especies terrestres; por no estar en contacto constante con un medio rico en agua, excretan gran parte de su nitrógeno como urea y especies que viven en condiciones relativamente secas, convierten los desechos de nitrógeno en ácido úrico. La forma de excreción y concentración de desechos nitrogenados pueden variar por el ambiente, alimentación y el nivel de hidratación que presenten los animales (Wright & Whitaker, 2001).

2.4.6 Sistema reproductor

El sistema reproductivo de los anfibios en general es bastante estandarizado; considerando la diversidad maneras fisiológicas y comportamentales que estos ejemplares han desarrollado para reproducirse. Las gónadas se encuentran en pareja y los gametos viajan por medio de los ductos. Mientras que, la cloaca recibe los residuos del sistema digestivo y sistema genitourinario; como es el caso de los espermatozoides y óvulos (Vitt & Caldwell, 2014; Wright & Whitaker, 2001).

Los machos poseen un par de testículos, la conformación es no lobulada, no poseen pigmentación y se encuentran conectados directamente con los riñones por medio del mesorquio. Los espermatozoides del testículo son transportados hacia los túbulos colectores nefríticos; los cuales entran en el ducto de Wolffian y se vacía en la cloaca (Wright & Whitaker, 2001).

Mientras que, las hembras presentan un par de ovarios que limitan y se conectan íntimamente con los riñones por medio del mesovario. Los folículos se encuentran rodeados por una delgada membranososa que se rompe en cada ciclo de ovulación para la salida de los óvulos hacia la cloaca. La conformación de los oviductos son rectos y elongados para el transporte los óvulos a ser fecundados (Wright & Whitaker, 2001).

4.2.7 Sistema músculo-esquelético

El sistema músculo esquelético en los anuros es de suma importancia, al ser estos ejemplares característicos por poseer una locomoción especial saltatoria. La columna vertebral se encuentra fusionada con y se dividen en tres regiones que son pre-sacral, sacral y post-sacral. Estos especímenes tienen la pelvis fusionada e íntima con la última vertebra pre-sacral, haciendo que, esta modificación permita facilitar los movimientos durante el salto (Wright & Whitaker, 2001).

Por otro lado, los huesos largos de las extremidades anteriores se componen de húmero, radio, ulna, huesos cárpales y metacarpos, mientras que, las extremidades posteriores componen fémur, tibia, fibula, huesos tarsales y metatarsos (Wright & Whitaker, 2001).

Finalmente, la cavidad celómica se encuentra conformada por el esternón y costillas que varía el número dependiendo de la especie y protegen la porción pectoral (Wright & Whitaker, 2001).

4.2.8 Sistema endócrino

El sistema endócrino en los anuros es importante para su fisiología y morfología. Hormonas como las adrenocorticotropa, hormona tiroidea, hormona estimulante de la tiroides y hormona del crecimiento, son encargadas de controlar en el transcurso del proceso de metamorfosis para la proliferación, diferenciación de los tejidos y en la vida adulta para control de la homeostasis fisiológica (Denver, Glennemeier, & Boorse, 2002).

La parathormona, es la encargada elevar los niveles de calcio y fósforo en la sangre, mediante una mayor actividad de los osteoclastos, la disminución en la excreción por orina, mayor nivel de absorción en el intestino y la producción de vitamina D en los riñones. Por otro lado, la hormona calcitonina se encarga disminuir los valores de calcio y fósforo en sangre, mediante el almacenamiento y además mantiene valores normales de vitamina D en la sangre, siendo importante el equilibrio hormonal para la conformación ósea y control de potasio y fósforo en sangre de los animales (Talmage & Mobley, 2008).

4.2.9 Sistema nervioso y sensorial

En los anuros, existe una cefalización aumentada, con mayor importancia en el proceso de información por parte del encéfalo y la correspondiente perdida de independencia de los ganglios espinales; los anuros solamente son capaces de reaccionar a reflejos esterotipales (Hickman, Roberts, Larson, l'Anson, & Eisenhour, 2007).

El encéfalo se divide en tres regiones importantes: el encéfalo anterior (telencéfalo), el cual se relaciona con el olfato y es capaz de reconocer olores diluido en el aire y es el más desarrollado en los anuros. El resto del encéfalo anterior y cerebro tienen poca importancia en estas especies (Kaas, 2017)

El encéfalo medio (mesencéfalo), es el lugar en donde se localizan en los lóbulos ópticos para las actividades visuales. Finalmente, el encéfalo posterior (rombencéfalo), este está dividido en un cerebelo anterior y una médula posterior. El cerebelo se encarga del equilibrio y la coordinación de los movimientos y no se observa muy desarrollada en anfibios; por eso siempre permanecen cerca del suelo. Mientras que, la médula oblonga se encuentra los reflejos auditivos, equilibrio respiración, deglución y el control vasomotor (Hickman et al., 2007; Kaas, 2017).

2.3 Anuros en cautiverio y manejo

Se describirá a continuación, las condiciones, requerimientos ambientales y sanitarios necesarios de los anuros en cautiverio.

2.3.1 Condiciones ambientales de los anuros en cautiverio

En cuanto a la vida de los anuros en cautiverio, los terrarios generalmente deben ser de vidrio y plástico por su fácil manejo (Wright & Whitaker, 2001). Los terrarios deben tener una humedad ambiental de 65% a 95% de saturación durante un periodo de 24 horas y el intervalo de la temperatura debe ser entre 24°C a 30°C en los períodos bajos de humedad. Es importante mantener el sustrato húmedo con contenedores de agua fresca para que los animales puedan mantenerse hidratados todo el tiempo (Aguilar, Hernández, Drivers, & Parpiñanan, 2010).

Por otro lado, los anuros al ser ectotérmicos requieren una fuente de calor, esta puede ser simulada con una de luz de reposo para brindarles calor o luces fluorescentes que además de proporcionar calor, envían radiación ultravioleta que permite la síntesis de vitamina D; la cual es muy necesaria para la absorción de calcio en el organismo y se debe evitar la luz brillante porque podría causarles estrés (Aguilar et al., 2010).

Con respecto a las condiciones de infraestructura dentro del terrario, se debe cumplir con enriquecimiento ambiental, el cual permita establecer condiciones similares con el entorno natural. Pueden ser usados materiales naturales como son la tierra, hojas, musgos, helechos, los cuales deben ser esterilizadas previamente en un horno a 110°C, así estos permitirán tener zonas con sombra profunda, áreas con luz parcial y completa, necesarios para evitar el estrés ambiental (Aguilar et al., 2010).

2.3.2 Manejo sanitario en cautiverio en los anuros

Al encontrarse los patógenos distribuidos a nivel mundial, estos están ocasionando importantes declives poblacionales en anfibios. Ha sido necesario implementar una bioseguridad en cautiverio y protocolos de manejo adecuados, para así minimizar la introducción de animales infectados a los centros de conservación (Pessier & Mendelson, 2009). Este proceso se inicia desde la llegada al centro, con el cumplimiento de una cuarentena, por un lapso mínimo de 90 días (Wright & Whitaker, 2001).

Durante el período de cuarentena, es sumamente importante la realización de medidas sanitarias de prevención. Las medidas sanitarias contemplan exámenes periódicos, valoración del peso, tamaño, comportamiento natural, apariencia física, y se complementa con la toma de muestras, que son usadas para la realización de exámenes de laboratorio, entre los que se encuentran hematológicos, coproparasitarios, cultivo, muestras histológicas, entre otras. Esta información recaudada puede servir de guía para conocer el estado de salud en que se encuentran inicialmente los animales (Pessier & Mendelson, 2009; Wright & Whitaker, 2001).

El complemento para lograr una correcta bioseguridad también depende de los operarios, que estos usen pediluvios en ingreso a las salas, mandiles exclusivos para sala, el uso guantes durante el manejo de los animales y que los cambien cuando se manipulan diferentes terrarios (Pessier & Mendelson, 2009)

2.3.3 Desinfección y cambio de agua

La desinfección se debe realizar luego del vació del terrario, con una solución de cloro al 5%, dejando en reposo de 10 a 15 minutos. Posteriormente se limpia con abundante agua hasta el retiro total de la sustancia (Pessier & Mendelson, 2009).

El cambio del agua que se suministra a los terrarios, debe ser de óptima calidad y tratada por procesos de filtración del 10% al 20%. El aporte del agua corriente deberá ser respuesta constantemente; según el sistema de abasto existente en el Centro. Con respecto al control es importante llevar en consideración el estado de los parámetros del agua que son la temperatura, turbidez, dureza, y pH. Estos deben ser manejados con responsabilidad y sigilo, ya que el agua debe tener características similares al estado silvestre, es decir sin cloro ni otro tipo de químicos o metales pesados que podrían causar enfermedades a los animales (Pessier & Mendelson, 2009)

2.3.4 Alimentación en cautiverio de anuros

En el ámbito alimenticio en cautiverio de los anuros, es importante continuar con el ofrecimiento de presas vivas para simular la alimentación en un medio natural, como son los grillos, insectos, escarabajos y larvas; como base de su dieta diaria (Pessier & Mendelson, 2009). Se recomienda la optimización y el balance del calcio y el fósforo y a su vez, se debe evitar que los lípidos se encuentren altos y las proteínas muy bajas en la dieta diaria (Wright & Whitaker, 2001). Actualmente, se conoce que los micronutrientes también son parte importante en el complemento de una dieta equilibrada, haciendo necesario el suplemento de ciertos nutrientes como vitamina D3, vitamina A, calcio y carotenoides (Ferrie et al., 2014).

2.3.5 Presencia de enfermedades en anfibios

Conjuntamente con la disminución de poblaciones de anfibios, se encuentran asociados los organismos de tipo infeccioso como son virus (*Ranavirus*), parásitos, bacterias, hongos (*Batrachochytrium dendrobatidis*) y protozoarios; que están afectando a los animales y forman parte importante dentro las amenazas de la extinción de estas especies (Pessier et al., 2014).

En cautiverio pueden presentarse agentes infecciosos a causa de un mal manejo, por lo que estos podrían estar exponiendo a los animales a un grave peligro, ya que los anuros son muy susceptibles por sus particularidades

anatómicas y fisiológicas; haciendo que cualquier agente extraño tenga mayor posibilidad de ingreso al organismo (Wright & Whitaker, 2001).

El monitoreo de enfermedades de los animales en cautiverio es sumamente importante para el control, manejo y bienestar de los ejemplares (Pessier & Mendelson, 2009).

Durante el cautiverio también se debe tener en cuenta enfermedades de tipo no infeccioso como las enfermedades metabólicas, que son de suma importancia y que presentan con frecuencia los anfibios, especialmente cuando se les oferta dietas diferentes o modificadas con respecto a su habitat natural y hacen que sean más propensos a sufrir alteraciones que afecten directamente su salud; como es la compensación fisiológica a una hipoxia ambiental en los animales que proviene del neotrópico (Witzmann et al., 2014).

Por otro lado, otros problemas de salud a ser tomados en cuenta son los síndromes idiopáticos, como es el caso del síndrome de edema. Este síndrome se caracteriza por presentar acumulo de líquido en la cavidad celómica y puede ser ocasionado por infecciones bacterianas, hongos, parásitos, problemas cardiovasculares, insuficiencia renal y hepática (Wright & Whitaker, 2011).

Además, a la cautividad inadecuada puede sumarse el estrés que sufren a causa de los cambios ambientales, lo que puede llevar a un debilitamiento del sistema inmunitario y así aumentar la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades (Rachowicz et al., 2006; Wright & Whitaker, 2001).

2.4 Necropsia

Entre los protocolos dentro de los centros de conservación de anfibios debe incluirse la realización de necropsia de todos los animales que mueren para evaluar y detectar presencia de enfermedades que pueden ser clínicamente insospechadas (Pessier & Mendelson, 2009). Esta técnica permite la realización de un examen completo sistemático de órganos y tejidos, para la identificación y descripción morfológicas de los procesos patológicos en un

cadáver, lo cual facilita determinar la causa de muerte de los individuos (Zacary & McGavin, 2012).

2.5 Histopatología

La histopatología es una herramienta que aclara y explica gran parte del diagnóstico final de las necropsias; en casos en que se hayan catalogado como muerte natural o cuando no hay un mecanismo de muerte claro y conciso para el diagnóstico concluyente (Cooper & Cooper, 2007; Pessier & Mendelson, 2009).

3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

El proyecto de conservación de la Balsa de los Sapos de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), ubicada en Quito-Ecuador, se dio inició en el año 2006. En las instalaciones de este Centro se encuentran en cautiverio especies endémicas ecuatorianas, entre las cuales está el ejemplar *Atelopus limon* (Museo de Zoología QCAZ, 2016).

La Balsa de los Sapos inició en el año 2014 con la conservación en formol al 10% de los individuos que tuvieron muerte repentina, para posteriormente realizar diferentes investigaciones. Dentro de la población de animales conservados en formol se encuentra la especie *Atelopus limon*, siendo está la más afectada con 57 individuos en el período de 2014 a 2016.

3.2 Muestra poblacional

La población de *Atelopus limon* que murió en el año 2014 fue de un total de 14 individuos; los que se encuentran conservados en formol al 10% y cuentan con datos importantes como son fecha de muerte, número de terrario y número de identificación. El reducido número de animales se debió a que son especies en peligro de extinción y una parte de la población de animales que murieron en el 2014 formó parte de estudios por medio del Museo de Zoología QCAZ.

El permiso de manejo para las muestras de animales se encuentra concedido bajo la patente de Manejo de Vida Silvestre 2017, No 007-2017-FAU-DPAP-MA, este documento se puede ver en el anexo1.

3.3 Evaluación física y biométrica

Se inició con un examen general física completo, en donde se observó la condición corporal basados en los parámetros biométricos (Ferrie et al., 2014).

Posteriormente, se tomó parámetros de peso en gramos (g), se calibró la balanza (BOECO BB I-41®) y con ayuda de un recipiente plástico se colocó al animal directamente para el pesaje. A continuación, se tomó medidas rostro-cloacal en milímetros (mm) con ayuda de un calibrador (Scala®) y la circunferencia celomática en milímetros (mm) con una cinta métrica. Además, para la evaluación física se utilizó información clínica individual; sexo, año de nacimiento, lugar de nacimiento y alteraciones relevantes del estado general sanitario, en donde se relata la presencia de líquido en la cavidad celomática, conformación ósea, otras lesiones como golpes y hemorragia. Durante este proceso se utilizó una cámara fotográfica para el registro de imágenes.

3.4 Necropsia e histopatología

A continuación, se hablará sobre las técnicas de patología e histopatología, usadas en el estudio.

3.4.1 Necropsia

La correspondiente necropsia fue realizada en laboratorio de microbiología de la Universidad de Las Américas.

Inicialmente, se realizó examen físico externo completo. Se evaluaron mucosas y piel. Se realizó palpación para la valoración de estructuras óseas, musculoesqueléticas, presencia de masas o mal formaciones en las diferentes partes del cuerpo (Wright & Whitaker, 2001).

A continuación, se colocó al animal en una caja petri y se realizó una incisión de una línea ventral en la piel, desde la porción intermandibular hasta la cloaca con ayuda de un escalpelo número cuatro y pinzas anatómicas. Luego, se incidió la musculatura y el esternón, en donde se valoraron los órganos internos de la cavidad celomática, mediante el uso de un estereoscopio KRUSS® (Pessier & Pinkerton, 2003).

Paso seguido, se continuó con la separación cuidadosa de los órganos. Se inició con el hígado, para continuar con vesícula biliar, corazón, bazo, pulmones, sistema digestivo (lengua, esófago, estómago, duodeno, páncreas, yeyuno, íleon e intestino grueso). Luego se separó sistema genitourinario; riñones, vejiga, oviductos y ovarios en hembras y en el caso de machos los testículos y finalmente músculo, hueso y piel (Pessier & Pinkerton, 2003).

Durante todos estos procedimientos, se tomó apuntes en el informe de necropsia recomendado por Wrigth y Whitaker (2001), para detallar los hallazgos macroscópicos y morfológicos encontrados, ver en el anexo 2.

3.4.2 Toma de muestras

Posterior a la necropsia, cada órgano fue diseccionado y se realizó una colecta completa que abarcó todos los órganos de los animales. Además, se tomaron los parámetros de localización, tamaño, forma y color de las estructuras. Se colocó en casetes individuales cada muestra para su fijación en envases de plásticos de 50 mL que contenía formol bufferado al 10% y se etiquetó correctamente para el posterior corte y tinción que fueron realizados en el Laboratorio de Histopatología de la Universidad de Las Américas.

3.4.3 Histopatología

Obtenidas las láminas histológicas se inició con la evaluación y observación de los tejidos colectados, mediante un microscopio de luz Olympus (CX21®) con los objetivos de enfoque 4x, 10x, 40x y en el caso de ser necesario se realizó observación con objetivo de inmersión 100x.

Para el estudio se utilizó referencia bibliografía especializada y comparada, esto permitió el reconocimiento entre tejido sano y alterado. Se tuvo la asesoría del director de la tesis, el PhD. Alexander Genoy-Puerto para la lectura de las láminas histológicas. Luego de identificadas y caracterizadas las lesiones de acuerdo a su severidad, cronicidad y extensión, estas se derivaron en lesiones

primarios (determinaron los diagnósticos principales) y secundarios que permiten profundizar la caracterización.

Para el complemento del estudio se realizó microfotografía de las lesiones encontradas, esto se realizó con microscopio de luz AxioLab.A1® (Zeiss) y cámara AxioCamErc5s® (Zeiss).

3.4.4 Análisis de los datos

Los hallazgos encontrados en las placas histológicas se detallaron en bases de datos dispuestas en tablas en un documentos de Microsoft Excel® para posteriormente realizar el análisis de las descripciones. Finalmente, para la indagación de los resultados, se utilizó patología general y sistémica comparada y se contó con la asesoría del PhD. Genoy-Puerto.

3.5 Diseño experimental

3.5.1 Hipótesis

H1: Las posibles causas de muerte en el centro de conservación la balsa de los sapos, de la especie *Atelopus limon*, en el año 2014 son ocasionadas por agentes de tipo infeccioso y no infeccioso.

3.5.2 Diseño experimental

Se realizó un estudio descriptivo y observacional de los principales y secundarios hallazgos histopatológicos encontrados en todos los órganos de la población de *Atelopus limon* que murieron el 2014.

Para la clasificación y descripción de las lesiones histopatológicas, es necesario conocer la anatomía, fisiología, fisiopatología, por lo que, se utilizó literatura selecta de libros de patología sistémica comparada y publicaciones científicas y para la histología comparada de anfibios, se contó con un atlas fotográfico con histología descriptiva de *Xenopus Laevis* de Wiechmann &

Wirsing-Wiechmann (2003), pues este proporcionó facilidad para la caracterización y comparación entre el tejido sano y alterado.

3.5.2.1 Clasificación de las causas de muerte

Las causas de muerte se clasificaron de acuerdo la metodología usada en medicina forense, la cual se fundamenta principalmente en las bases de la medicina veterinaria, la patología y la fisiopatología comparada (Cooper & Cooper, 2007).

Se catalogaran en órganos principales y secundarios con sus respectivas lesiones primarias, secundarias, la severidad, extensión y cronicidad. Subsiguientemente, se tomaron los diagnósticos principales severos que comprometen la vida de los animales y se clasificaran las causas de muerte tomando en cuenta los parámetros establecidos por Montali (2004), Wright, & Whitaker (2001) Genoy-Puerto (2012), ver tabla original anexo 3. Los diagnósticos encontrados en las causas de muerte serán relacionados fisiopatológicamente por la manera de acción los diferentes mecanismos desencadenantes que causan las fallas multiorgánicas y como estos afectan a los diferentes órganos y su homeostasis. En tabla 1 se encuentra de forma resumida la clasificación de las causas de muerte.

Tabla 1.

Tabla adaptada de la clasificación de las causas de muerte según Genoy-Puerto, Montali & Wright & Whitaker.

Tipo de causa	Causa de muerte	Mecanismo de muerte
Infeciosa	Virus Hongos Bacterias Parásitos Combinación de dos o más de los anteriores	Choques hipovolémico y endotóxico. Colapsos cardiorrespiratorio y respiratorio. Emaciación. Falla multiorgánica y en la osmorregulación.
No infecciosa	Intoxicación. Hipertermia, hipotermia, desecación y deshidratación. Traumatismo de origen antropogénico accidental, antropogénico intencional, iatrogénico, peleas, golpes y caídas. Trastornos metabólicos y nutricionales (hipovitaminosis A, hipocalcemia, enfermedad metabólica ósea, deficiencia de tiamina, hiperfosfatemia, obesidad, impactación gástrica). Alteraciones congénitas, neoplasias. Insuficiencias sistémicas, multisistémicas y enfermedades degenerativas.	Choque cardiogenico, endotóxico, neurogénico, séptico e hipovolémico. Emaciación. Colapso cardiorrespiratorio, cardiaco y respiratorio. Traumas craneanos, dorso-caudales, tóraco-abdominales, politraumatismos en órganos internos y fracturas coxofemorales (con posible generación de trombos) y falla multisistémica.
Indeterminada	Una causa de muerte indeterminada se produce en aquellos casos en los que los hallazgos anatomopatológicos e histológicos no guían hacia un diagnóstico específico debido a autólisis o putrefacción de los tejidos, ausencia de partes del cuerpo o por ausencia de tejido para muestreo.	
Sospechosa de infecciosa	Se determina esta causa de muerte en los casos en los cuales se observan hallazgos anatomopatológicos e histológicos compatibles con procesos infecciosos, pero que cuyo agente causal no ha podido ser reconocido o aislada	

Por otro lado, los hallazgos anatomopatológicos serán usados como apoyo, ya que no son muy representativos macroscópicamente.

Mientras que, los hallazgos secundarios encontrados en el estudio servirán para el conocimiento del estado sanitario en que se encuentra la población en una línea temporal y como esto afectaría al bienestar de los animales en cautiverio.

3.6 Análisis estadístico

El estudio a desarrollarse fue descriptivo, utilizándose estadística descriptiva. Se realizó una base de datos en Microsoft Excel®, en la cual se dispuso toda la información recaudada durante el estudio.

De esta base de datos se obtuvo información descriptiva. Primero se clasificó entre órganos principales y secundarios, aquí se obtuvieron las causas de muerte individuales, posteriormente, estas se determinaron como de origen no infecciosas e infecciosas y sus respectivas ponderaciones. Cada causa de muerte fue descrita teniendo en cuenta la población que la conformó, es decir, describiendo peso, sexo, tamaño y la fase etaria de la misma. Además, cada causa muerte, tuvo una clasificación de alteraciones patológicas primarias y secundarias.

Para el análisis de los resultados se expresan por estadística descriptivamente y mediante representación tabular y gráfica.

4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Información general

Se recopiló información sobre la edad, lugar de nacimiento y tiempo de cautiverio. El 92.86% (13/14) de los individuos son ejemplares que nacieron en el centro de conservación en el año 2010, mientras, que el 7.14 % (1/14) provino de vida silvestre en el año 2009. A continuación, en la tabla 2 se detalla el número de identificación, año de nacimiento, frecuencia, lugar de nacimiento, el tiempo de cautiverio de cada individuo.

Tabla 2.

Información general de los individuos que murieron en el año 2014.

Identificación	Año de nacimiento	Frecuencia	Lugar de nacimiento	Años en cautiverio
628	2009	1/14	Vida silvestre	5
2802, 2997, 29971, 2984, 2836, 2981, 2993, 2980, 2984, 2808, 3342, 2559, 2872	2010	13/14	Cautiverio	4

La población se encontró conformada por el 78.57% (11/14) de hembras y el 21.43% (3/14) fueron machos, siendo muy representativo la disminución poblacional en el número de hembras. En la tabla 3 se detalla la frecuencia de número de hembras y machos que han muerto en el año 2014 y su respectiva identificación.

Tabla 3.

Identificación, número de hembras y machos que conforman la población de animales muertos en el 2014.

Sexo	Frecuencia	Identificación
Hembras	11/14	2802, 2997, 29971, 29841, 628, 2836, 2981, 2993, 2980,2984,2808
Machos	3/14	3342,2559,2872

Se encontró que el 78.57% (11/14) de los individuos se presentaba con buena condición corporal, por otro lado, 21.43% (3/14) se encontraban en un rango bajo de peso.

La presencia de ascitis fue evidente en el 85.71% (12/14), mientras que el 14.29% (2/14) no se presentó visualmente ascitis.

Otra patología que afectó a la población fueron las alteraciones en la conformación ósea; especialmente en columna vertebral, en el 92.86% (13/14) se presenciaron alteraciones como cifosis, lordosis y escoliosis, por lo que, el 7.14% (1/14) no presentó alteración aparente macroscópicamente.

Otro tipo de alteración fue la epistaxis y hemorragia de cavidad bucal en el 7.14% (1/14).

En la tabla 4 se detalla la frecuencia de las lesiones anteriormente relatadas y el número de identificación de los individuos, mientras que, en la tabla 5 se encuentran las medidas biométricas con sus respectivas medias, desviaciones estándares y parámetros mínimos y máximos.

Tabla 4.

Frecuencia de alteraciones presentes durante el examen físico.

Examen físico y/o historia clínica	Frecuencia	Identificación
Buena condición corporal	11/14	2802,2997, 29971, 29841,628, 2836,2981,2993,2980, 2984,2808,
Mala condición corporal	3/14	3342,2559,2872
Presencia de ascitis	12/14	2997, 628,2836,2981, 2872, 2802, 29971, 3342, 29841, 2559, 2993, 2980
Malformaciones óseas (cifosis, lordosis, escoliosis)	13/14	2802, 2997,29971, 29841, 628, 2836, 2981, 2993, 2984, 2808, 2559, 2872, 2980
Hemorragia fosas nasales y cavidad bucal	1/14	2559

Tabla 5.

Medidas biométricas de peso, distancia rostro-cloaca y circunferencia torácica.

Sexo	Peso (g) Media (desviación estándar)	Distancia rostro- cloaca (mm) Media (desviación estándar)	Distancia circunferencia torácica (mm) Media (desviación estándar)
Hembras	9.66 (± 3.77)	43.17 (± 6.12)	53.13 (± 6.31)
Machos	3.01 (± 1.34)	1.83 (± 4.43)	1.60 (± 4.87)

4.2 Principales hallazgos de los órganos principales

Se confirmó la presencia de lesiones primarias y secundarias en todos los órganos. Primero, se relatan las lesiones principales de manera general como diagnóstico definitivo y a continuación las lesiones secundarias; las cuales permiten complementar la información a los hallazgos principales para la determinación y categorización de la *causa mortis*.

4.2.1 Principales diagnósticos en corazón

Las alteraciones principales en corazón afectaron al 92.86% (13/14) de los individuos, estas lesiones son no infecciosas de tipo crónico. Se presentó mayoritariamente insuficiencia cardíaca congestiva, miocarditis, hidropericardio y se encontró una lesión de tipo tumoral, el rabdomioma multifocal. En la tabla 6 se detallan de forma resumida los diagnósticos encontrados en corazón.

Tabla 6.

Diagnósticos principales en corazón, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los individuos.

Diagnósticos en corazón	Frecuencia	Identificación
Insuficiencia cardíaca congestiva, hidropericardio y miocarditis focal leve	2/14	2802, 2836
Insuficiencia cardíaca congestiva y miocarditis focal leve a moderada	10/14	2997, 29971, 628, 2981, 2984, 2993, 2980, 2808, 2559, 29841
Rabdomioma multifocal e insuficiencia cardíaca congestiva	1/14	2872
Indeterminado	1/14	3342

4.2.1.1 Insuficiencia cardíaca congestiva

La insuficiencia cardíaca congestiva se encontró presente en el 92.86% (13/14), mayoritariamente como alteración primaria en los individuos 2802, 2836, 2997, 29971, 628, 2981, 2984, 2993, 2980, 2808, 2559, 2982. Esta alteración afectó principalmente a los atrios con una hipertrofia excéntrica, congestión cardíaca y edema (Figuras 1 y 2).

En las fibras musculares del miocardio se observó degeneración y leve rabdomiolisis focal, mientras que, en algunos individuos la alteración fue acompañada con hidropericardio en el 14.3% (2/14) y en el 71.43% (10/14) con una miocarditis secundaria (Figuras 3 y 4).

Por otro lado, en el 7.14% (1/14) se presentó rabdomioma como diagnóstico principal, pero el corazón también fue afectado por insuficiencia cardíaca congestiva.

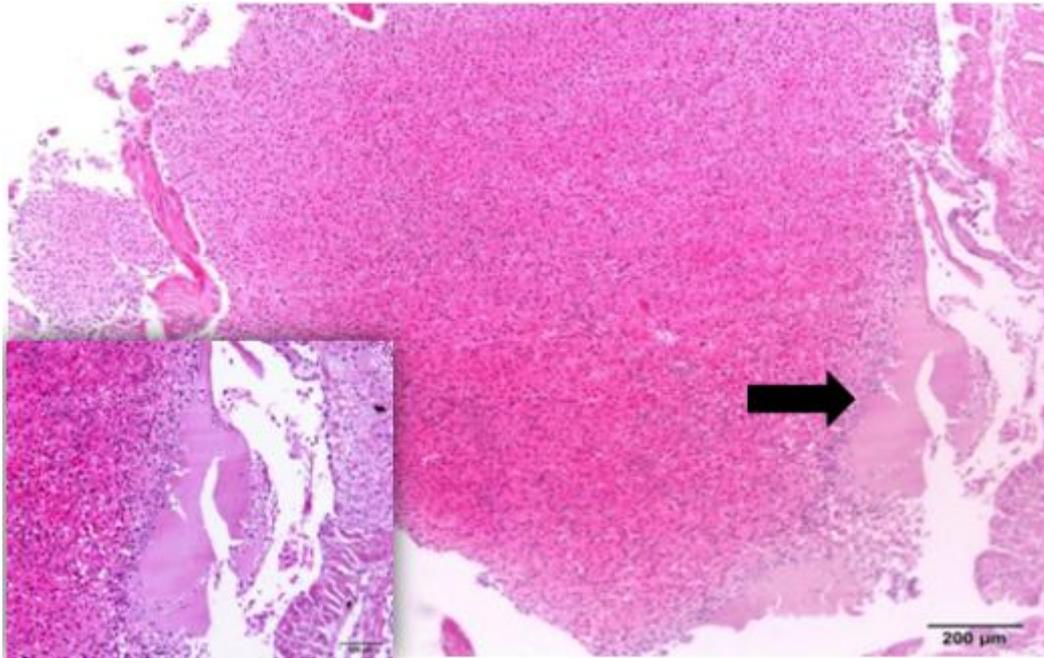


Figura 1. Congestión y edema cardíaco. Hipertrofia excéntrica de la aurícula derecha con congestión cardíaca severa y presencia de edema eosinófilo focal severo (flecha negra). Microfotografía de corazón (E y H). 4x. *Atelopus limon*, 29841-2. Recuadro inferior izquierdo. Edema eosinófilo focal severo. 10x. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

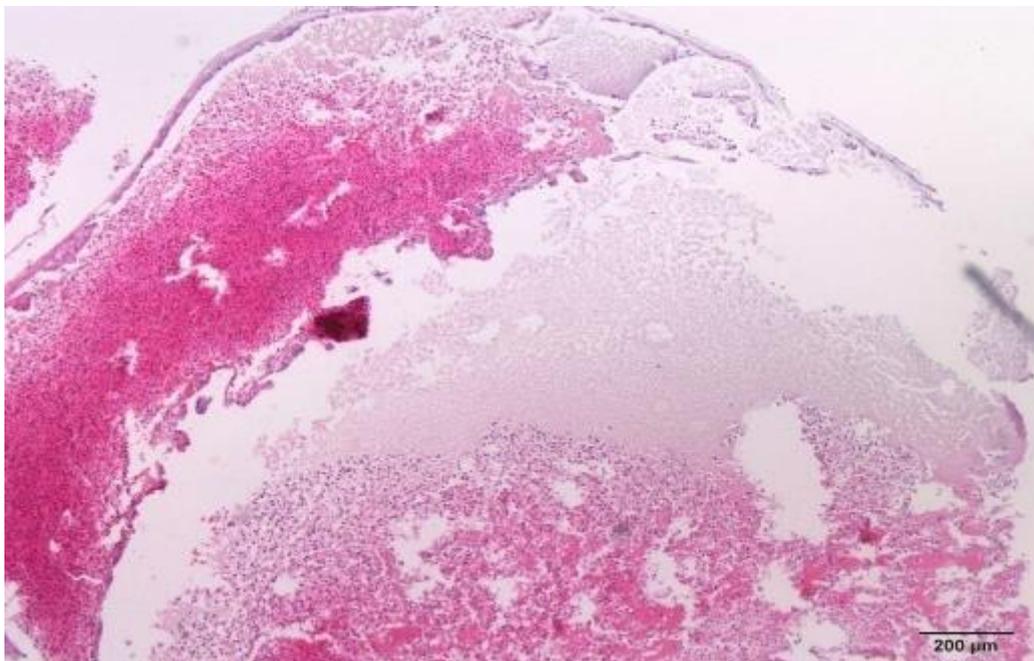


Figura 2. Edema cardíaco severo. Se observa hipertrofia excéntrica, disminución del grosor del miocardio de la aurícula izquierda. Esta alteración se acompaña con congestión y edema cardíaco generalizado severo. Microfotografía de corazón (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2559-9. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La insuficiencia cardíaca congestiva se desarrolla gradualmente, puede iniciarse a causa de enfermedades que afecta al miocardio de tipo crónico, alteraciones a nivel valvular, hipertensión, por el incremento del trabajo del corazón durante las adaptaciones ambientales, deficiencias nutricionales, enfermedades metabólicas (deficiencia de vitamina D) o puede asociarse a patologías renales, hepáticas y pulmonares (Jubb, Kennedy, & Palmer's, 2007; Zacary & McGavin, 2012; Zittermann et al., 2003).

Los factores anteriormente mencionados pueden presentarse en cautiverio y desencadenar patologías cardíacas. Estas lesiones se pueden producir a causa de un mal manejo, especialmente cuando hay una mala adaptación ambiental, estrés crónico, enfermedades metabólicas y deficiencias nutricionales (Wright & Whitaker, 2001).

En los anuros el requerimiento óptimo ambiental de oxígeno es sumamente importante, debido a que estos presentan una circulación sanguínea cerrada, doble e incompleta. Por lo que, el desarrollo de una insuficiencia cardíaca congestiva se relacionaría directamente con una homeostasis compensatoria debido a la hipoxia ambiental que se produce por una mala adaptación a la altura; ya que estos ejemplares son originarios del oriente ecuatoriano.

Las principales alteraciones presentadas en los *Atelopus limon* a nivel de corazón, coinciden con la descripción encontrada en la literatura, la cual se caracteriza por la presencia de una dilatación de las cámaras del corazón, esta alteración se encontró acompañada por una hipertrofia excéntrica, disminución del grosor, debilitamiento y necrosis en el miocardio. Además, se observó congestión generalizada severa y edema (Trigo, 2011).

Otra alteración presente que afectó al corazón de los *Atelopus*, fue el hidropericardio, esta es una lesión bastante representativa y que acompaña a la insuficiencia cardíaca congestiva, anasarca generalizada o un desbalance en las presiones coloidosmótica e hidrostática (Jubb et al., 2007).

El hidropericardio se caracteriza por presentar líquido (trasudado) en el saco del pericardio; este líquido se encuentra oprimiendo al corazón y produce un inadecuado llenado auricular, ventricular y por lo tanto un pobre retorno venoso (Jubb et al., 2007; Kumar, Abbas, & Aster, 2013; Zacary & McGavin, 2012). Esta alteración en la población en cautiverio, está íntimamente relacionada a la insuficiencia cardíaca congestiva y a todas las modificaciones que se desencadena a partir de la misma, por otro lado, la descripción anteriormente relatada coincidió con las presenciadas en los ejemplares del estudio con cardiomiopatías e hidropericardio (Figura 3).

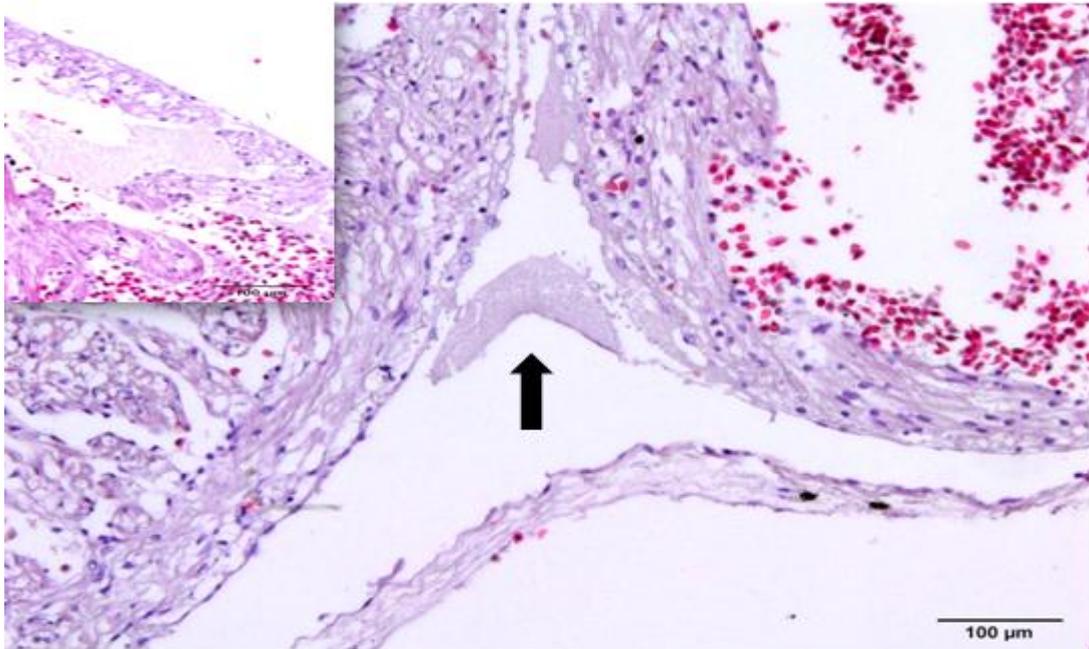


Figura 3. Hidropericardio. Se observa edema basófilo focal en el pericardio moderado (flecha negra). Microfotografía corazón (E y H).10x. Recuadro superior izquierdo. Edema basófilo focal moderado. 10x. *Atelopus limon* 2980-2. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

En los hallazgos encontrados en el miocardio de los *Atelopus*, en el 71.43% (10/14) se apreció miocarditis como una alteración secundaria. Esta se presentó leve de forma difusa y es posible que esta alteración este acompañando a la lesión principal.

La miocarditis raramente es una lesión principal que se produce a nivel de miocardio, esta alteración puede tener origen de enfermedades infecciones que llegan al corazón por vía sanguínea o de manera directa por encontrarse lesiones inflamatorias en el endocardio y pericardio (Jubb et al., 2007).

Un ejemplo de miocarditis se presencié en *Loxodonta africana* procedente de cautiverio. En el miocardio se pudo determinar la presencia de agregados inflamatorios mixtos, polimorfonucleares, linfocitos, leucocitos, histiocitos. Por otro lado, en las fibras se pudo observar inflamación y fragmentación, pero no se presentó ninguna necrosis en el miocardio (Seaman, 1987).

A diferencia del *Loxodonta africana*, en los *Atelopus limon* solamente se presentaron polimorfonucleares y a nivel de las fibras se encontró

rabdomiolisis, degeneración ondular de las fibras e incluso necrosis focal, siendo esta una variación muy representativa. A pesar de que los animales son diferentes, los dos provienen de cautiverio y esta lesión se caracteriza como una inflamación del miocardio (Figura 4).

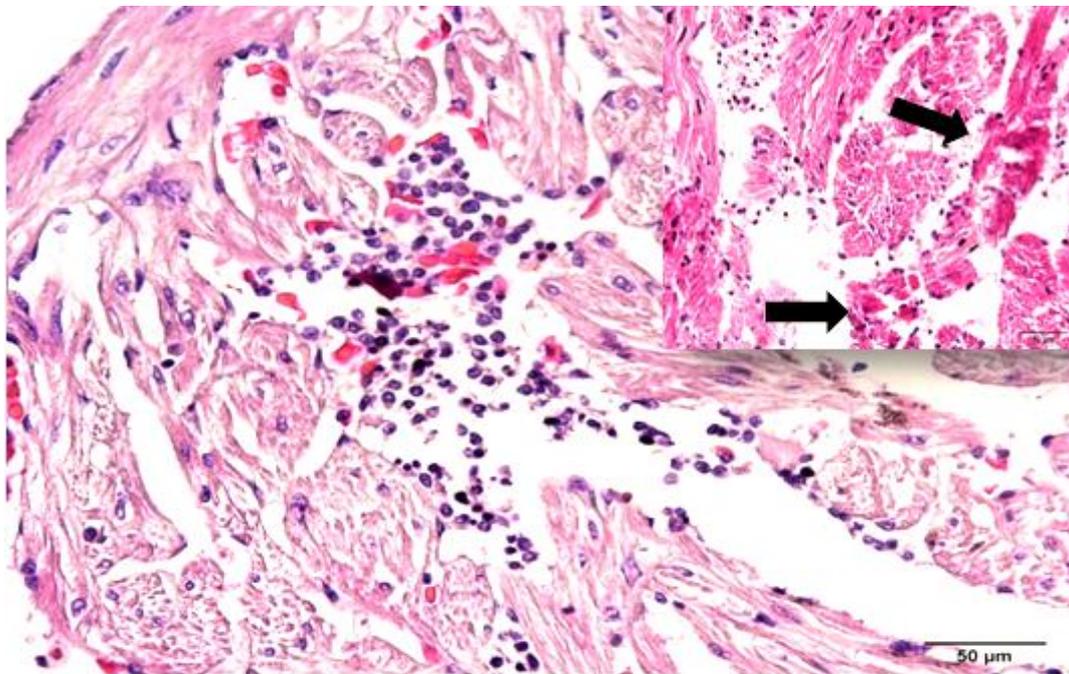


Figura 4. Miocarditis. Presencia de agregados inflamatorios basófilos difusos severos en el miocardio del ventrículo. Se observa degeneración de las fibras musculares multifocal. Microfotografía de corazón (E y H). 20x. Recuadro superior derecho. Necrosis y rabdomiolisis multifocal (flechas negras) con agregados inflamatorios basófilos mixtos difusos y degeneración generalizada de las fibras. 20x. *Atelopus limon* 2993-2. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.2.1.2 Rabdomioma

En el individuo 2872 se observó a nivel de miocardio tres estructuras redondas irregulares, separadas, con núcleos redondos, desordenados; al igual que las fibras y presentaron infiltrado inflamatorio basofílico difuso moderado. Estas estructuras se encontraron rodeadas por citoplasma eosinófilo. La lesión anteriormente relatada es compatible con rabdomioma multifocal (Figura 5).

Al diagnóstico anterior también se le suma la presencia de insuficiencia cardíaca congestiva como se relató anteriormente

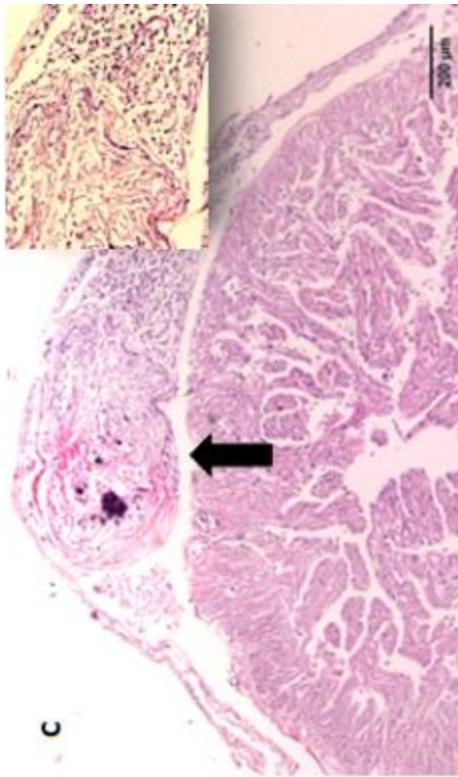
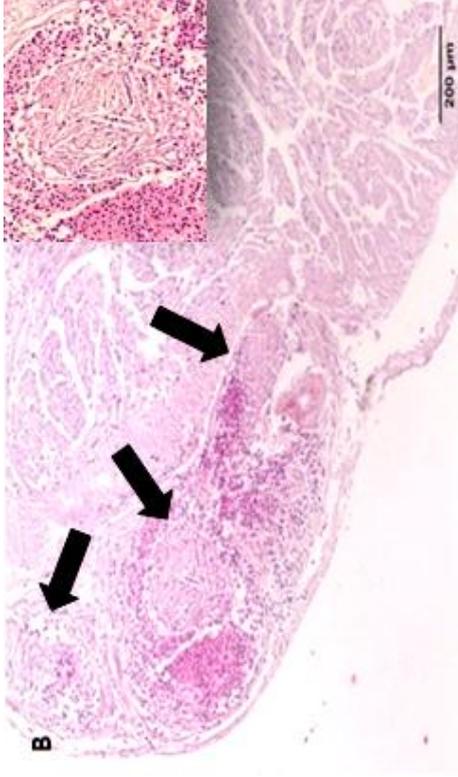
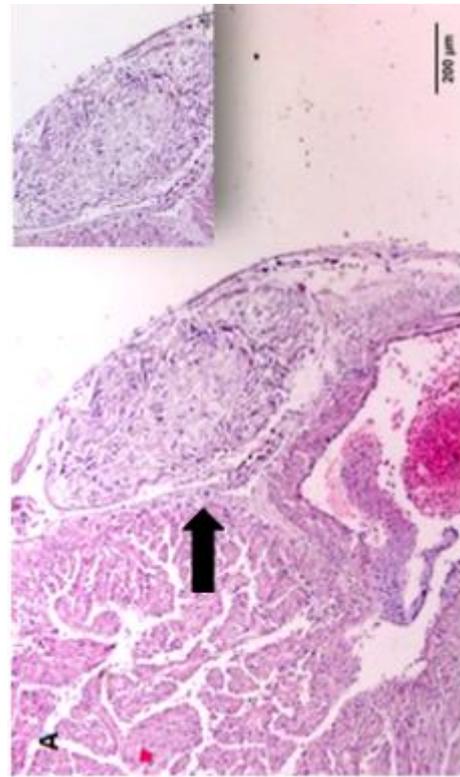


Figura 5. Rabdomioma multifocal. En las imágenes A, B y C, se observan las fibras encapsuladas, agrupadas en múltiples nódulos irregulares, redondos y largos (flechas negras). Los núcleos de los miocitos se presentan desordenados y acompañando a esta lesión, se presentan agregados inflamatorios basófilos mixtos difusos moderados. Microfotografías de corazón (E y H). 4x. Recuadros superiores derechos de las imágenes A, B y C. Fibras irregulares con presencia de citoplasma eosinófilo, vacuolas generalizadas, núcleos desordenados y agregados basófilos mixtos difusos moderados. 40x. *Atefopus limon* 2872-11. Fuente: Alvear-Santos, 2018.



Los tumores benignos originarios del músculo estriado son frecuentes en corazón, desarrollándose comúnmente desde que los animales son jóvenes, ya que en estos es más probable la aparición de hamartomas o lesiones displásicas (Jubb et al., 2007). Esta alteración pudo acompañar al individuo 2872 desde la etapa juvenil. Además que, esta lesión posee características benignas y no fue fatal para la supervivencia del ejemplar en el cautiverio, pero con el tiempo disminuye la funcionalidad del correcto bombeo cardiaco.

El rabdomioma cardíaco generalmente se encuentra involucrando directamente con la pared ventricular derecha y el septum del corazón. Esta alteración se presenta macroscópicamente como unas masas nodulares, con superficies lisas, incrustadas y circunscritas en el miocardio (Jubb et al., 2007).

La caracterización anteriormente relatada coincide con la descripción de la lesión que se encontró a nivel macroscópica en el individuo 2872, con la diferencia de que además de presentarse en la pared ventricular derecha y en septum del corazón, este rabdomioma también se localizó en la porción de la pared izquierda ventricular limitando con la aurícula, este hallazgo se puede ver en el anexo 4.

En la determinación microscópica del rabdomioma, se pudo observar los miocitos desordenados y no hay presencia de mitosis, las fibras se encontraron agrupadas en múltiples nódulos irregulares y largos. Además, se localizó vacuolas en todo el citoplasma de color eosinófilo (Jubb et al., 2007; Kolly, Bidaut, & Robert, 2004).

La descripción realizada anteriormente es similar a la encontrada en el individuo 2872, a diferencia de que en la caracterización de este ejemplar, se presentó infiltrado inflamatorio basofílico (Figura 5). Esta alteración presentó características benignas; por la no presencia de mitosis en los núcleos (Zacary & McGavin, 2012).

4.2.2 Diagnósticos principales riñón

Las alteraciones principales en los riñones afectaron al 85.71% (12/14) de los individuos. Estas lesiones son no infecciosas de tipo crónico. Se encontró principalmente insuficiencia renal crónica. Se presentaron riñones con glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis membranoproliferativa, nefritis tubulointersticial, poliquistes, una lesión de tipo tumoral como el carcinoma renal y congestiones multifocales en riñón. En la tabla 7 se detallan los diagnósticos con la frecuencia correspondiente y los individuos afectados.

Tabla 7.

Diagnósticos principales en riñón, la frecuencia de presentación y el número de identificación.

Diagnóstico riñón	Frecuencia	Identificación
Glomerulonefritis membranosa con nefritis tubulointersticial, poliquistes y congestión multifocal de moderada a severa	8/14	2802,2993, 2808, 2559, 2997, 2981, 2980, 29971
Glomerulonefritis membranoproliferativa, poliquistes multifocal y congestión multifocal moderada	3/14	29841, 2872, 2836
Carcinoma renal y glomerulonefritis membranoproliferativa	1/14	628
Indeterminado	2/14	2984, 3342

4.2.2.1 Glomerulonefritis membranosa con nefritis tubulointersticial

En el 57.14% (8/14) se presentó a nivel de los glomérulos un engrosamiento de la membrana basal. Por otro lado, en los túbulos proximales y distales se observó engrosamiento de la membrana basal por el aumento del número de fibras y los túbulos se hallaron degenerados. La anterior lesión descrita estaba acompañada por agregado inflamatorios basofílicos mixtos difusos por todo el órgano (Figuras 6 y 7).

Se visualizaron varios quistes renales; estos estaban rodeados por epitelio simple o cubico, e internamente se localizó líquido difuso basofílico; esto correspondería a riñones poliquísticos (Figura 8). Otro hallazgo relevante fue la presentación de congestiones multifocales de moderadas a severas en el riñón.

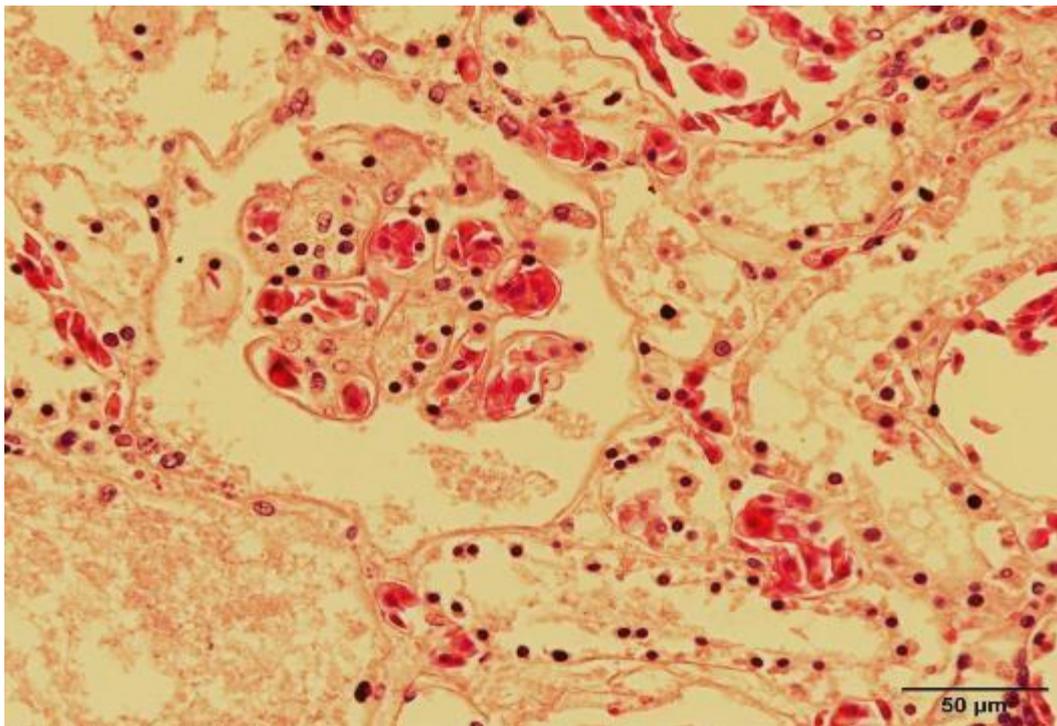


Figura 6. Glomerulonefritis membranosa moderada. Engrosamiento de la membrana basal de los glomérulos multifocal moderada con degeneración de los túbulos y el intersticio generalizado severo. Esta lesión se encuentra acompañada por agregados inflamatorios basófilos difusos mixtos moderados y congestión multifocal de leve a moderada. Microfotografía de riñón (E y H). *Atelopus limon* 2997-3. 20x. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

Alteraciones a nivel de glomérulos pueden estar asociados a infecciones persistentes, fármacos, tóxicos, metales pesados, isquemia, entre otros. Estos agentes activan los complejos inmunes selectivos C3a, C4a y C5a que se encuentran presentes en los capilares glomerulares y son quimiotácticos para neutrófilos (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

Estos complejos inmunes selectivos producen alteraciones en la membrana basal de los glomérulos y si la lesión se prolonga, también se proliferan linfocitos y monocitos, haciendo que los complejos C5 a C9 se activen causando daño en la base de la membrana y proliferación de las células mesangiales (Zacary & McGavin, 2012).

La glomerulonefritis membranosa se caracterizó por presentar un engrosamiento en la base de la membrana glomerular y es producida por complejos inmunitarios que presentan agregados inflamatorios basofílicos mixtos y en el caso de ser de tipo crónico, estos complejos inmunitarios predominarían en el subendotelio hasta originar cambios graves de la matriz membranosa como son la esclerosis y la fibrosis glomerular; por lo que, esta patología se relaciona directamente con insuficiencia renal crónica (Jiménez et al., 2008; Jubb et al., 2007; Trigo, 2011; Zacary & McGavin, 2012).

La alteración anteriormente relatada coincide con los hallazgos presentados en el 57.14% (8/14) de los individuos, en donde, las lesiones como el engrosamiento de la base de la membrana de los glomérulo y los agregados inflamatorios mixtos son similares, pero a diferencia de la descripción realizada por los textos, en los riñones de los *Atelopus* no se observó esclerosis ni fibrosis glomerular.

Otra alteración presente en los *Atelopus* fue la nefritis tubulointersticial, esta lesión generalmente se encuentra como secundaria a la insuficiencia renal crónica (Zacary & McGavin, 2012). En los túbulos y al intersticio, se puede presentar atrofia, presencia de agregados inflamatorios mixtos, degeneración,

proliferación de fibroblastos, miofibroblastos y finalmente fibrosis (Border et al., 2010; Jubb et al., 2007)

Podemos comparar que las alteraciones que se observaron en los túbulos de los ejemplares que forman parte del estudio, son similares a las que se describen en la literatura. Ya que, se presentó agregados inflamatorios mixtos basofílicos, degeneración, proliferación de fibroblastos que causaron el aumento en el número de fibras en el intersticio y por consecuencia fibrosis multifocal.

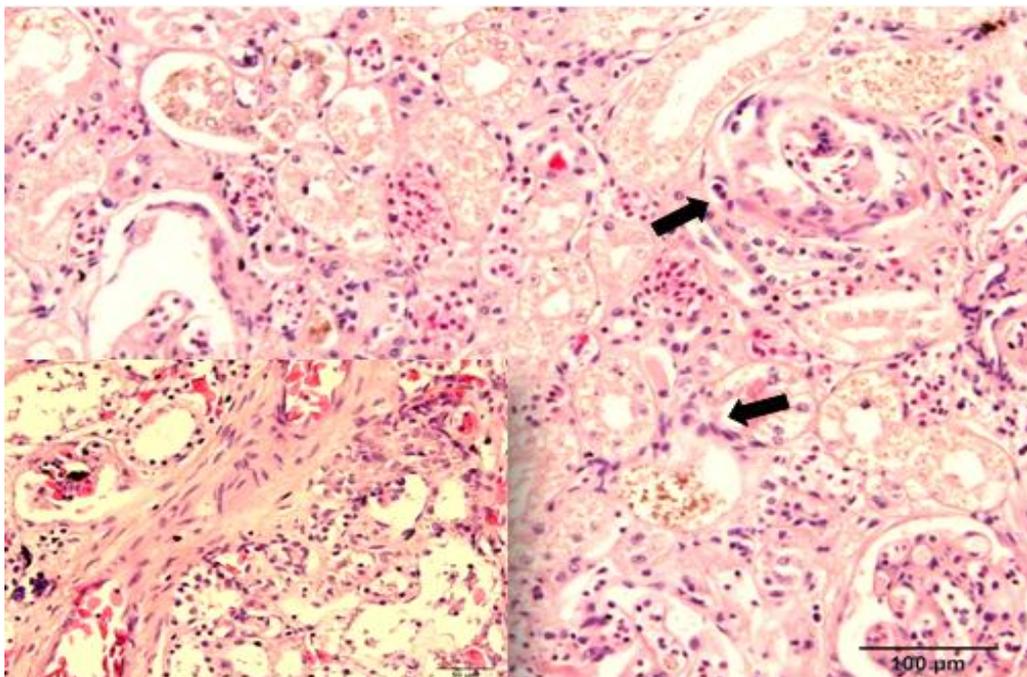


Figura 7. Nefritis tubulointerstitial. Se presencia fibrosis multifocal de moderada a severa (flechas negras), degeneración de los túbulos y el intersticio generalizado severo. La lesión está acompañada por agregados inflamatorios basófilos mixtos difusos severos. Microfotografía riñón (E y H). *Atelopus limon* 2981-5. 10x. Recuadro inferior izquierdo. Fibrosis en los túbulos y en el intersticio focal severo. 20x. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

Los riñones poliquísticos estaban presentes en casi toda la población de *Atelopus*. La manifestación de los riñones poliquísticos puede ocurrir por producirse por una displasia renal o por defectos de los genes autosomales dominantes (PKD1 y PKD2); los cuales desarrollan poliquistes bilaterales en la porción proximal y distal del riñón. Estos quistes pueden crecer progresivamente

y producir una nefritis tubulointersticial crónica e insuficiencia renal en la vida adulta (Jubb et al., 2007).

Entre las principales causas de muerte en cautiverio en *Atelopus limosus*, se ha descrito la enfermedad renal poliquística. Esta lesión principalmente presentó dilatación severa y cambios vacuolares de los túbulos renales, causando a largo plazo una nefritis intersticial crónica y nefropatología degenerativa (Pessier et al., 2014).

Según lo descrito anteriormente, se podría relacionar que la nefritis tubulointersticial y la insuficiencia renal en los *Atelopus limon* se desarrollaron a causa de una nefropatología degenerativa debido a los poliquistes presentados en los riñones (Pessier et al., 2014).

Se han caracterizado los poliquistes mediante histopatología en *Procyon lotos*, los quistes estaban rodeados por epitelio simple e internamente se presenta material líquido proteico basofílico multifocal (Hamir & Klein, 1996; Zacary & McGavin, 2012).

A diferencia de los hallazgos presentes en *Procyon lotos*, en la población de *Atelopus limon* muertos en el año 2014, los quistes se observaron revestidos con epitelio simple y cubico, pero el contenido interno era similar; líquido basofílico difuso.

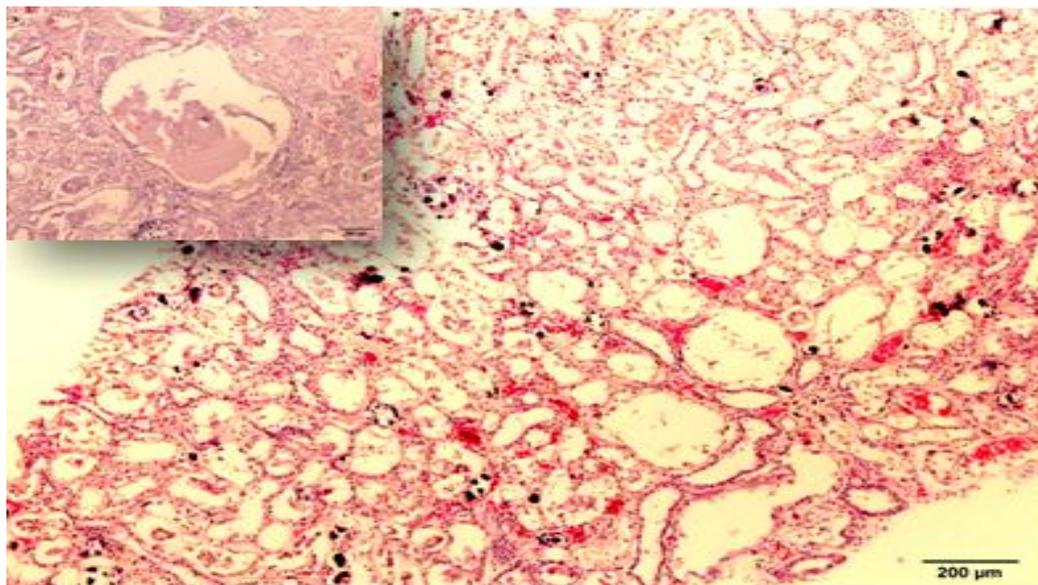


Figura 8. Poliquistes. Se presentan múltiples quistes de diferentes diámetros de manera generalizada. Los quistes están rodeados por epitelio cubico y simple, e internamente se observa material basófilo; este es compatible con líquido. Microfotografía de riñón (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2980-4. Recuadro superior izquierdo. Quiste recubierto por epitelio simple plano y líquido basófilo internamente. 4x. Fuerte: Alvear-Santos, 2017.

4.2.2.2 Glomerulonefritis membranoproliferativa con nefritis tubulointersticial

En el 21.43% (3/14), se determinó en los glomérulos proliferación de las células mensajiales con engrosamiento de la membrana basal. A nivel de los túbulos e intersticio el número de fibras estaban aumentadas y los túbulos se hallaron degenerados. La lesión anteriormente descrita se encontró acompañada por agregados inflamatorios basofílicos mixtos (Figura 9).

Se presenció múltiples quistes renales; estos estaban rodeados por epitelio simple o cubico, e internamente se localizó líquido difuso basofílico; esto correspondería a riñones poliquísticos (Figura 8). Otro hallazgo relevante fue la presentación de congestiones multifocales moderadas en el riñón.

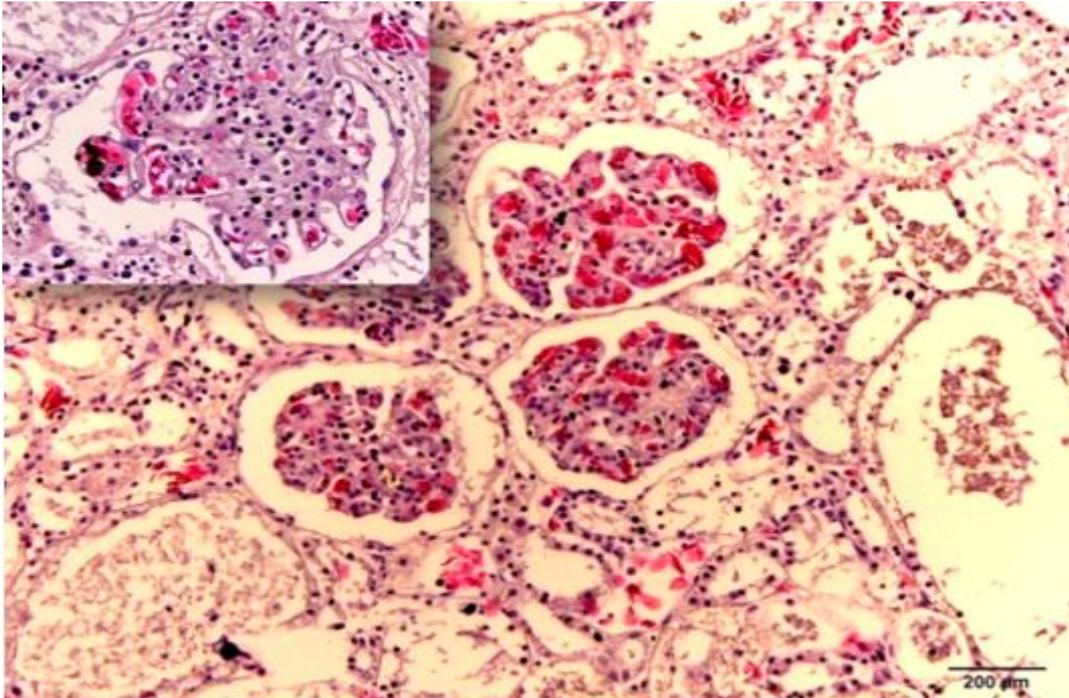


Figura 9. Glomerulonefritis membranoproliferativa. En los glomérulos se observa proliferación de las células mesangiales y engrosamiento de la membrana basal generalizada severa. Mientras que, el intersticio y los túbulos se presenta fibrosis multifocal severa con degeneración generalizada severa. Este hallazgo está acompañado por agregados inflamatorios mixtos difusos severos. Además, se presentaron múltiples quistes rodeados de epitelio simple y cubico e internamente se halla material basófilo; compatible con líquido. Microfotografía de riñón (E y H). 4x. *Atelopus limon* 29841-6. Recuadro superior izquierdo. Glomérulo con proliferación de células mesangiales y membrana basal focal severa. 20x. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

Las alteraciones presentes en los glomérulos se describirán a continuación y estas coincidieron con las encontradas en el 21.43% (3/14) de los individuos que son parte del estudio.

La glomerulonefritis membranoproliferativa se caracterizó por presentar una hiper celularidad de las células mesangiales del endotelio y la membrana se encontró engrosada, esta lesión se acompaña con células inflamatorias basófilas mixtas difusas (Zacary & McGavin, 2012). La descripción de esta alteración en los riñones es compatible con insuficiencia renal crónica (Aresu et al., 2007)

Las alteraciones secundarias a insuficiencia renal crónica como es la nefritis tubulointersticial y poliquistes se encuentran descritas anteriormente.

4.2.2.3 Carcinoma renal

En el individuo 628 se observó lesiones primarias compatibles con carcinoma renal. Se localizó en la corteza renal estructuras de forma papilar y proliferativa. Los núcleos eran poco diferenciados; algunos tenían forma cubica, redonda, ovalada y otros se encontraban en mitosis, mientras que, el citoplasma tenía una coloración eosinófila (Figura 10).

La anterior lesión se halló acompañada por la presencia de glomerulonefritis membranoproliferativa; la cual se describió anteriormente.

También, se localizaron varios quistes renales, estos estaban rodeados por epitelio simple o cubico, e internamente se localizó líquido difuso basofílico; esto correspondería a riñones poliquísticos. Otro hallazgo relevante fue la presentación de congestiones multifocales moderadas en el riñón.

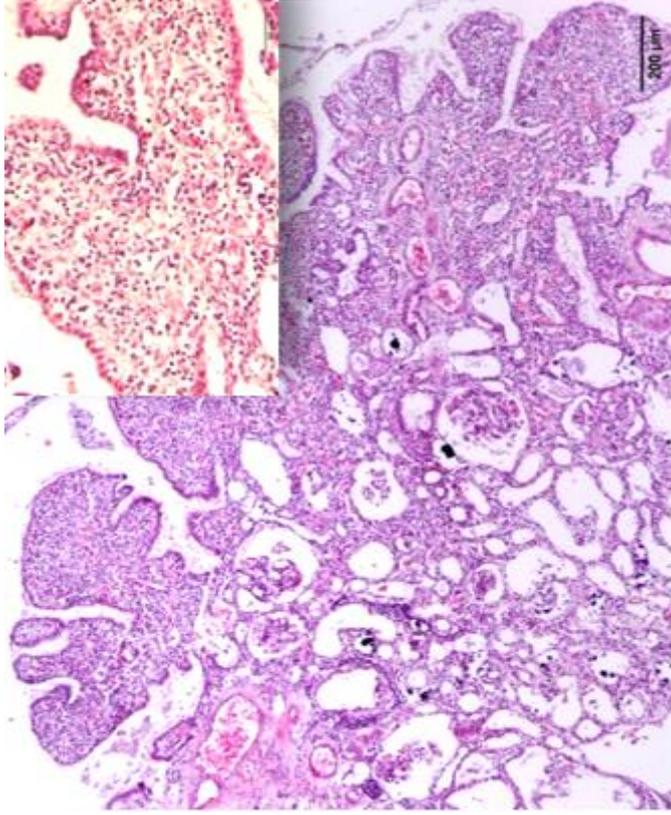


Figura 10. Carcinoma renal. Se presentan estructuras papilares y proliferativas en la corteza renal. Se observa en el citoplasma espacios quísticos y estos son de coloración eosinófila. Los núcleos son pleomórficos generalizados y algunos se encontraron en mitosis. Microfotografía de riñón (E y H). 4x. Recuadro superior derecho. Se observa proliferación de los núcleos generalizado severo. 20x. *Atelopus limon* 628-5. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

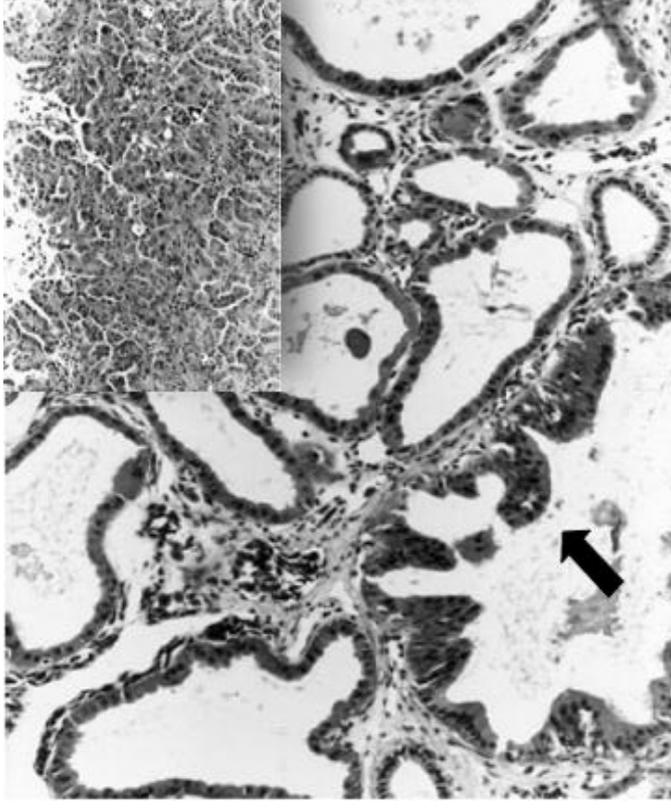


Figura 11. Carcinoma renal. Se observa en el riñón del híbrido entre de *Bufo japonicus* y *Bufo raddei*, proliferación papilar en la corteza renal (flecha). Las células son atípicas; estas presentaron núcleos alargados con hiperchromia, mientras que, el citoplasma se presentó abundante y de color eosinófilo. De forma general, se presenciaron múltiples poliquistes renales; estos dilataron el revestimiento de los túbulos proximales. Microfotografía de riñón (E y H): 132x. Recuadro superior derecho. Se observan los patrones pleomórficos celulares de crecimiento del carcinoma. 165x. Fuente: Masahito et.al, 2003.

El carcinoma renal es un tumor primario que proviene de las células tubulares y se localiza predominantemente en la corteza renal. Este tumor es concurrente en animales adultos y geriátricos, siendo más propensos a adquirir esta enfermedad individuos que presentaron poliquistes renales (Kumar, Habbas, & Aster, 2013).

El ejemplar 628 era un adulto de 5 años de edad y presentó riñones poliquísticos, estos factores según lo relatado anteriormente, hacen que este individuo sea un excelente candidato a padecer este tipo de tumoraciones en riñón.

Esta lesión a nivel macroscópico coincidió con la presentada en el individuo 628, ver hallazgo en anexo 5, en donde se pudo observar una masa esférica u ovoide localizada en un polo del riñón y la coloración podría ser gris o amarillo pálido con áreas negras por presencia de necrosis y hemorragia (Jubb et al., 2007; Trigo, 2011).

Mientras que, la lesión microscópicamente presenta estructuras en forma papilar y tubular en la corteza renal, esto ocasiona la presencia de espacios pequeños lineales quísticos y a nivel celular. Hay una proliferación de núcleos, los cuales tienen una variedad de formas. El citoplasma es eosinófilo y en varias áreas se encuentran vacuolas multifocales (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

Esta alteración ha sido caracterizada en anuros híbridos entre *Bufo japonicus* y *Bufo raddei*, se visualizó crecimiento celular papilar en la corteza renal, en donde se predominaron diferentes patrones de los núcleos celulares e incluso mutaciones germinales de los mismos. Además, se presenciaron vacuolas en el citoplasma eosinófilo multifocal. Acompañando a esta lesión se hallaron riñones poliquísticos y los túbulos se encontraron dilatados severamente (Masahito et al., 2003)

Las características presentadas en la lesión tumoral en los anuros híbridos son idénticas a los hallazgos encontrados en el individuo 628 e incluso la localización es la misma, por lo tanto, se podría confirmar el diagnóstico mediante la comparación de estos dos resultados.

4.2.3 Diagnósticos principales en pulmón

Las alteraciones principales en los pulmones afectaron al 85.71% (12/14) de los individuos, estas lesiones son no infecciosas de tipo crónico. Se determinó neumonía proliferativa crónica, enfisema pulmonar, hemorragia pulmonar y alteraciones congestivas con presencia de edema pulmonar. En la tabla 8 se detallan los principales diagnósticos encontrados en pulmón, la frecuencia y la identificación de los individuos.

Tabla 8.

Diagnósticos principales en pulmón, la frecuencia de presentación y el número de identificación.

Diagnóstico pulmón	Frecuencia	Identificación
Neumonía proliferativa crónica, congestión y edema	10/14	2802, 2997, 2980, 2984, 2808, 29841, 2872, 2836, 2981, 3342
Enfisema alveolar, congestión multifocal y edema difuso	1/14	628
Hemorragia pulmonar y edema generalizado	1/14	2559
Indeterminado	2/14	29971, 2993

4.2.3.1 Neumonía proliferativa crónica, congestión y edema

En el 42.86% (6/14) se diagnosticó neumonía proliferativa en el epitelio alveolar, se visualizó agregados inflamatorios basofílicos mixtos y proliferación de neumocitos, mientras que, en los capilares alveolares se localizó congestión de moderada a severa que ocasionó edema pulmonar severo (Figura 12).

Por otro lado, se apreció en el individuo 29841 neumonía proliferativa bacteriana leve, se presentaron alteraciones en los alveolos similares a las relacionadas en la neumonía proliferativa crónica, pero en este ejemplar se suma la presencia de estructuras pequeñas, redondas, agrupadas en racimos y de coloración basofílica multifocal; estas son compatibles con bacterias (Figura 14).

Y en el 21.43% (3/14) se presencié congestión y edema generalizado severo, esto ocasionó una proliferación celular en los alveolos leves; similares a la neumonía proliferativa crónica descrita anteriormente y se encontró también desprendimiento del epitelio alveolar en zonas en donde se localizaba el edema multifocal (Figura 13).

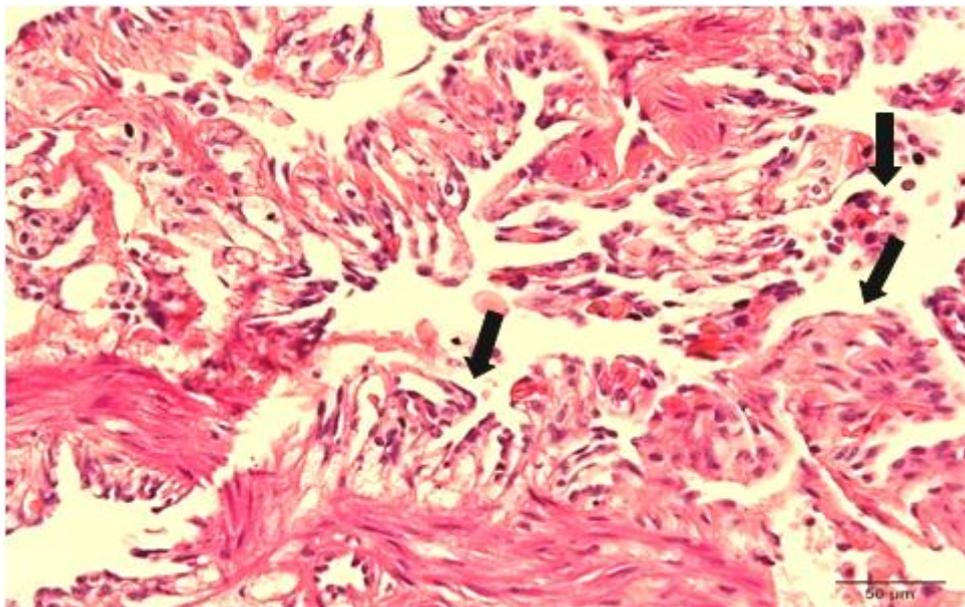


Figura 12. Neumonía proliferativa. Se observa proliferación de neumocitos y de agregados inflamatorios basofílicos mixtos en el epitelio alveolar y desprendimiento del mismo (flechas negras) este hallazgo ocasiona que se presente un engrosamiento en el revestimiento y en el intersticio alveolar generalizado moderado (flecha negra). Microfotografía de pulmón (E y H). 20x. *Atelopus limon* 2802-5. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

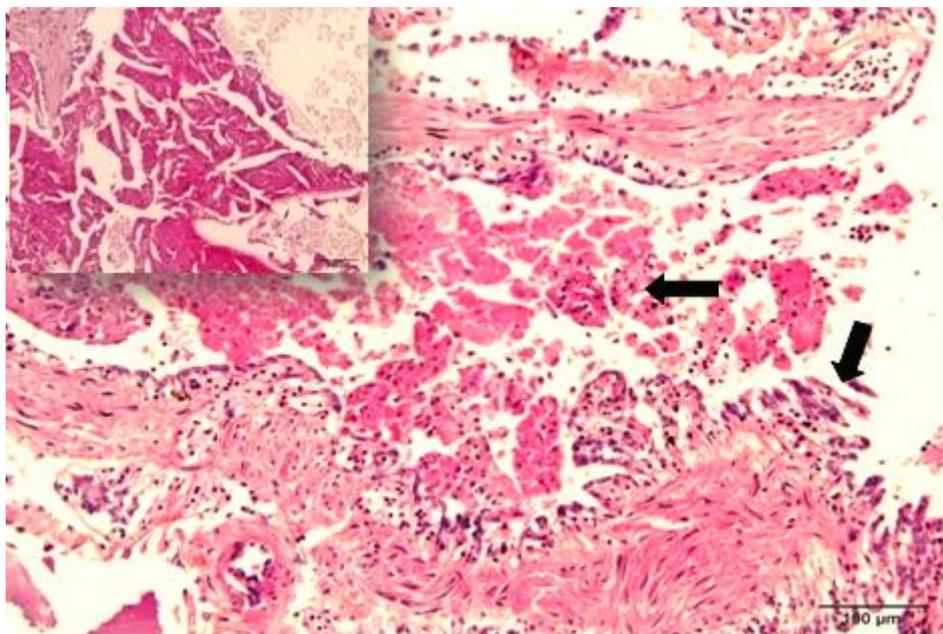


Figura 13. Edema pulmonar. Se observa en la luz alveolar la presencia de edema eosinófilo generalizado severo (flecha negra). En el epitelio alveolar se observa proliferación de neumocitos y agregados inflamatorios basófilos mixtos generalizado moderado (flecha negra). Microfotografía de pulmón (E y H). 10x. En el recuadro superior izquierdo. Se encuentra edema eosinófilo severo. 10x. *Atelopus limon* 2836-8. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La congestión pulmonar se puede encontrar relacionada directamente con los diagnósticos obtenidos en corazón en el 92.86% (13/14) de la población que murió en el 2014 y que presentan insuficiencia cardíaca congestiva.

La congestión severa en los individuos pudo ocasionar la activación de los macrófagos pulmonares ubicados en los alveolos; estos son encargados de realizar eritrofagocitosis para contrarrestar la lesión, además se produce una proliferación de células de defensa basófilas (Jubb et al., 2007).

Con el tiempo la congestión pulmonar progresiva causa una permeabilidad vascular y por consecuencia el edema pulmonar; el cual se describe como la presencia de líquido proteico en la luz alveolar (Trigo & Elizondo, 2004).

Posteriormente, el edema es reconocido por el sistema inmunitario como un agente extraño y se produce una proliferación de células inflamatorias de polimorfonucleares, mononucleares y células endoteliales como neumocitos tipo II (Jubb et al., 2007; Kumar, Habbas, et al., 2013; Trigo, 2011; Zacary & McGavin, 2012). La activación de las células de defensa por presencia de la congestión y el edema son indicadores para la determinación de una neumonía proliferativa; como es el caso de los individuos que formaron parte del estudio.

Microscópicamente, el edema pulmonar que se observó en el pulmón fue igual al definido en la literatura. Este se describe como un líquido edematoso y fibroso, esta lesión se presentó acompañada por fibroblastos, macrófagos, monocitos, polimorfonucleares, proliferación e hiperplasia de los neumocitos (Lee et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

Hay autores que aseguran que la congestión y edema crónico se pueden extender hacia el intersticio y producir abundante membrana hialina en los alveolos y bronquiolos (Buergelt, Hines, Cantor, & Wilson, 2000; Szeredi & Szentimai, 2008). Descrito lo anterior, se podría relacionar con el engrosamiento que se presentó en el epitelio alveolar se relaciona con la congestión y el edema presentes.

Por otro lado, en el individuo 29841 se diagnosticó neumonía proliferativa con agregados bacterianos focales. Este hallazgo es muy común en bovinos y es posible que las bacterias provengan de la misma flora bacteriana del sistema respiratorio. Se puede visualizar la presencia de las bacterias en la luz alveolar agrupadas en racimos basofílicos multifocal. A futuro es esta lesión podría y convertirse en neumonía supurativa bacteriana (Camargo, 2010; Trigo, 2011; Vallejo, Chaves, Morillo, Astaíza, & Melo, 2016). La proliferación bacteriana no fue representativa por lo que se tomó un hallazgo secundario a la neumonía.

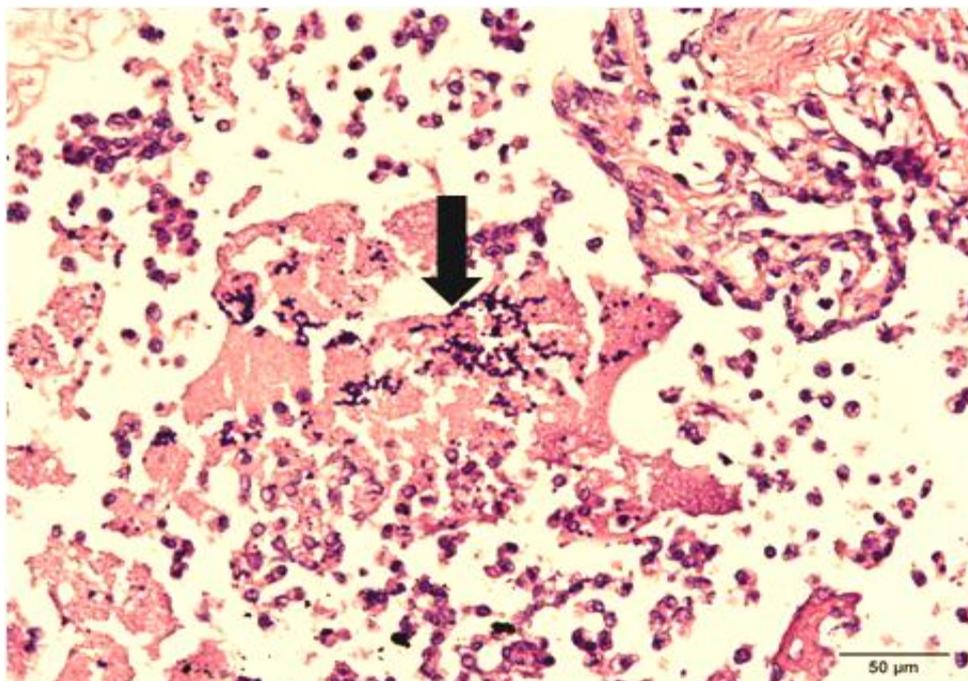


Figura 14. Neumonía proliferativa. Se presentan agregados inflamatorios basófilos mixtos en la luz alveolar generalizada severa y edema basófilo difuso severo. A este hallazgo, se suma la presencia de agregados redondos basófilos pequeños en forma de racimos, estos son compatibles con bacterias (flecha blanca). Microfotografía de pulmón (E y H).20x. *Atelopus limon* 29841-9. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.2.3.2 Enfisema alveolar

En el individuo 628 se observó enfisema alveolar. Esta alteración se caracterizó por presentar aumento en el tamaño de los alvéolos multifocal e incluso se ocasionó ruptura de las paredes de los mismos y en la luz alveolar se localizó edema con desprendimiento del epitelio focal (Figura 15).

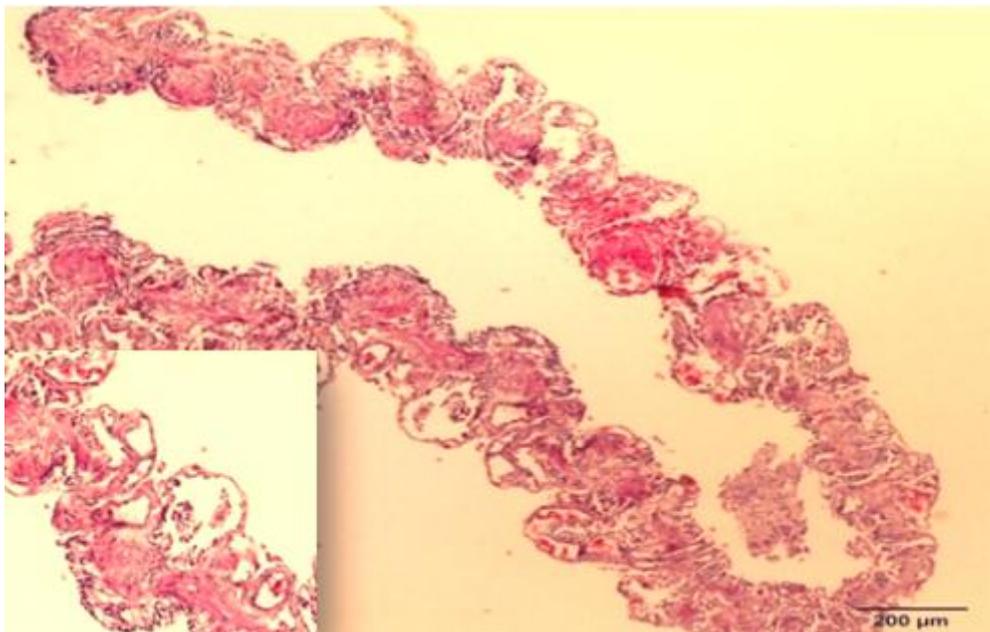


Figura 15. Enfisema alveolar. Los alveolos presentan aumento del tamaño multifocal severo y ruptura de las paredes. En la luz alveolar se observa edema focal moderado. Microfotografía de pulmón (E y H) 4x. Recuadro inferior izquierdo. Aumento del diámetro del alveolo severo y desprendimiento de tejido. 10x. *Atelopus limon* 628-9. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

El enfisema alveolar observado en el individuo 628 es similar al descrito en los textos, en donde, se presentó aumento del tamaño de los alveolos, acompañado por destrucción de las paredes, edema y ausencia de fibrosis. Esta lesión se caracteriza como irreversible (Jubb et al., 2007; Kumar, Habbas, et al., 2013; Woods et al., 2006).

Otros autores aseguran que se podría presentar apoptosis celular acompañada de una proliferación de leucocitos, haciendo de esta una alteración de tipo crónico (Demedts, Demoor, Bracke, Joos, & Brusselle, 2006; Hogg & Senior, 2002). Pero en los hallazgos encontrados en el individuo 628 no se presenciaron agregados inflamatorios leucocitarios.

Este hallazgo ha sido caracterizado en medicina forense como un hallazgo post mortem que se encuentra normalmente durante la necropsia e histopatología (Cooper & Cooper, 2007).

4.2.3.3 Hemorragia pulmonar

Se determinó hemorragia pulmonar en el individuo 2559, se observó hemorragia en los sacos pulmonares generalizada, siendo esta más marcada en los alveolos pulmonares. La lesión anteriormente descrita se encontró acompañada con edema y se presenció desprendimiento del epitelio alveolar (Figura 16).

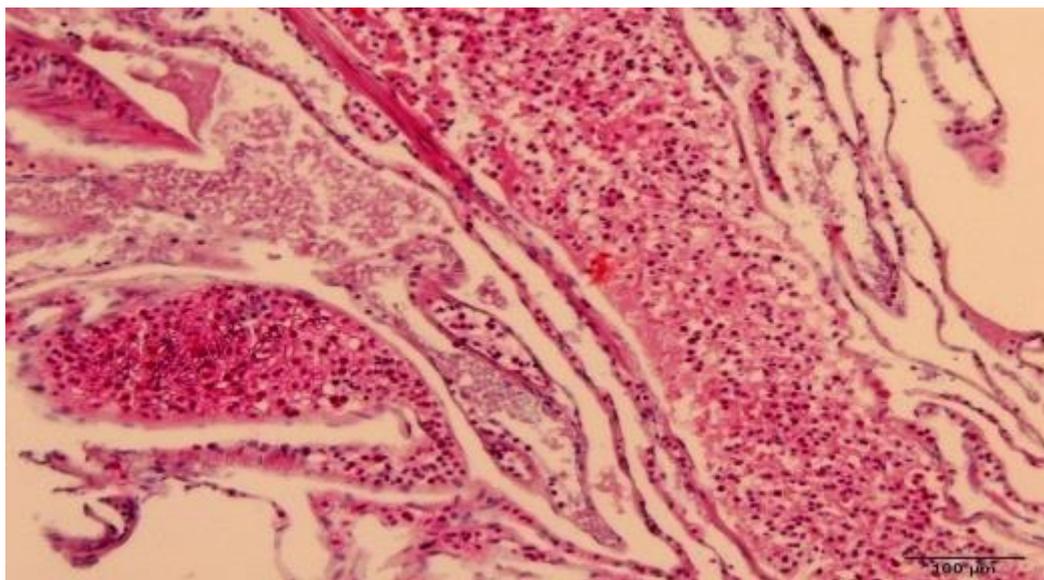


Figura 16. Hemorragia pulmonar. Se observa hemorragia generalizada en el pulmón, se encuentra edema difuso basófilo y desprendimiento del epitelio alveolar multifocal. Microfotografía pulmón (E y H). 10x. *Atelopus limon* 2559-8. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La presencia de hemorragia pulmonar puede encontrarse asociada a varios factores internos y externos como son las congestiones pulmonares severas, traumatismo, septicemias, alteraciones en los factores de coagulación, coagulación intravascular diseminada, infartación, ruptura de aneurisma, ruptura de la vena caudal, necrosis, tóxicos, abscesos y el estrés (Specks, 2001; Trigo, 2011; Zacary & McGavin, 2012).

Las hemorragias generalmente se presentan en la porción dorsocaudal de los lóbulos del pulmón; coincidiendo con los hallazgos observados en el individuo 2559, en donde se pudo observar macroscópicamente el pulmón de color rojo, café o gris focal y se presentó una palidez en el resto del órgano (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

A nivel microscópico, se ha descrito en la hemorragia alveolar la presencia de abundantes macrófagos alveolares fagocitando hemosiderina y esta lesión se encontró acompañada por una ligera fibrosis en las paredes alveolares (Zacary & McGavin, 2012).

En los hallazgos microscópicos que se observaron en el individuo 2559, se encontró hemorragia y edema multifocal, acompañando a esta lesión se apreció desprendimiento del epitelio alveolar. A diferencia de lo relatado en la literatura, en este ejemplar no se presentó fibrosis en el intersticio ni macrófagos fagocitando hemosiderina, ya que esta lesión no fue crónica.

4.2.4 Diagnósticos principales en hígado

Las alteraciones principales en hígado afectaron al 71.43% (10/14) de los individuos, estas lesiones son de tipo congestivo crónico con presencia de edema y fibrosis focal en la triada portal. En la tabla 9 se detallan los diagnósticos con la frecuencia correspondiente y los individuos afectados.

Figura 9.

Diagnósticos principales en hígado, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico hígado	Frecuencia	Identificación
Congestión generalizada y edema hepático moderado a severo	9/14	2997, 29971, 29841, 628, 2980, 2984, 2559, 2872, 2802
Congestión generalizada hepática y una fibrosis en la porción de la triada porta	1/14	2993
Indeterminado	4/14	3342, 2836, 2981, 2808

4.2.4.1 Congestión y edema hepático

En el 71.43% (10/14) se observó congestión generalizada principalmente en los sinusoides y vena centro lobulillar, mientras que, el edema se encontraba mayoritariamente en la periferia y cápsula hepática (Figura 17). En el individuo 2993 se apreció congestión generalizada acompañada de fibrosis focal en la triada porta (Figuras 18 y 19).

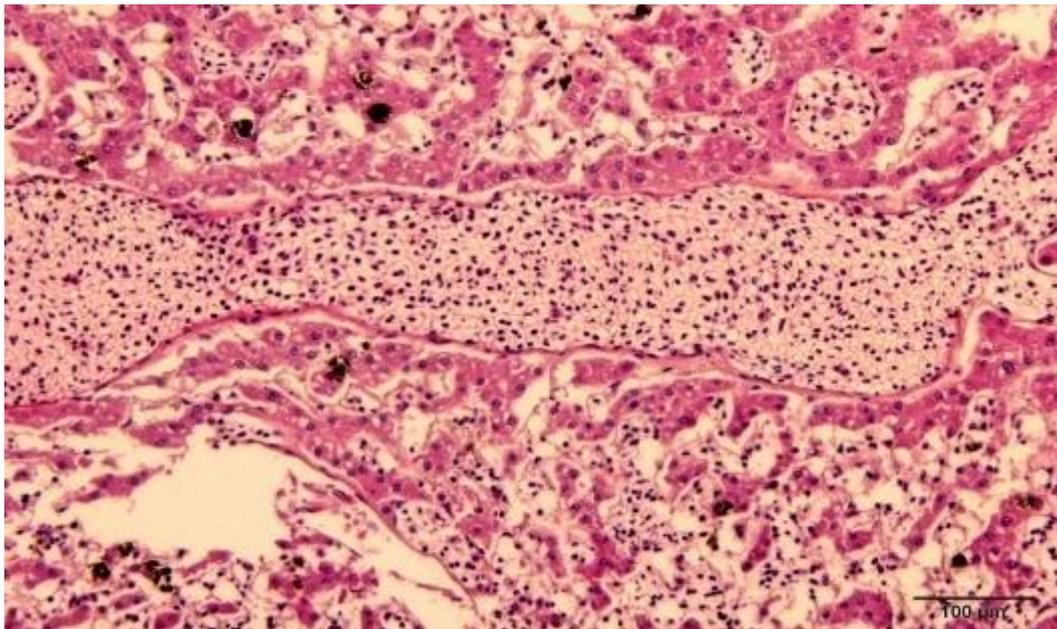


Figura 17. Congestión hepática. A nivel de los sinusoides se localiza congestión multifocal severa. Microfotografía de hígado (E y H). 10x. *Atelopus limon* 29841-1. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

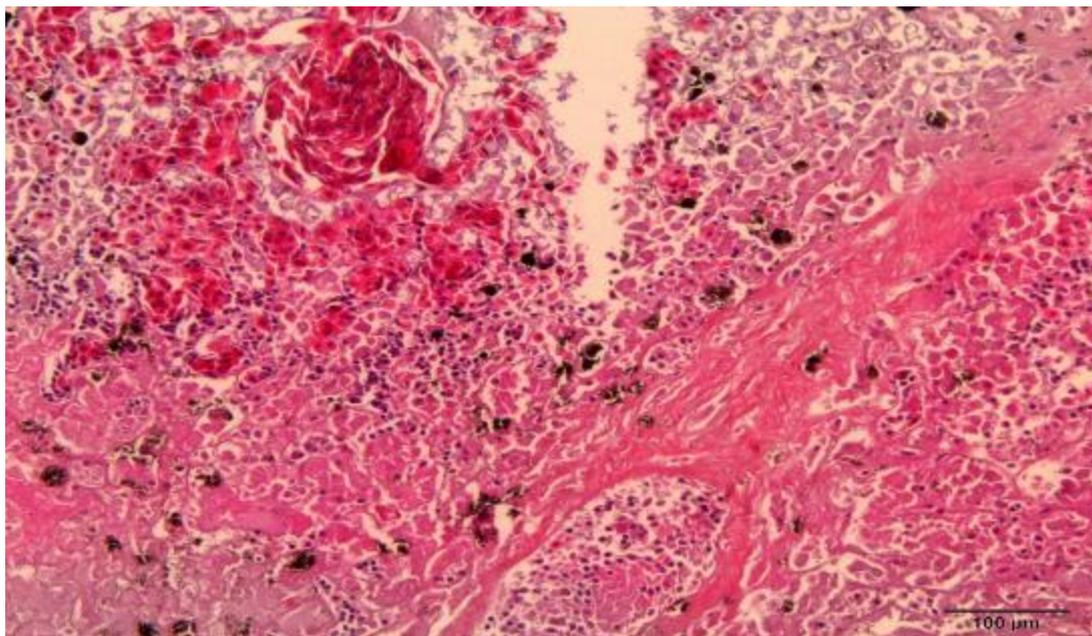


Figura 18. Fibrosis hepática. Se visualiza fibrosis focal hepática severa en el vaso de la triada porta, esta lesión se encuentra acompañada con congestión multifocal severa. Microfotografía de hígado (E y H). 10x. *Atelopus limon* 2993-1. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

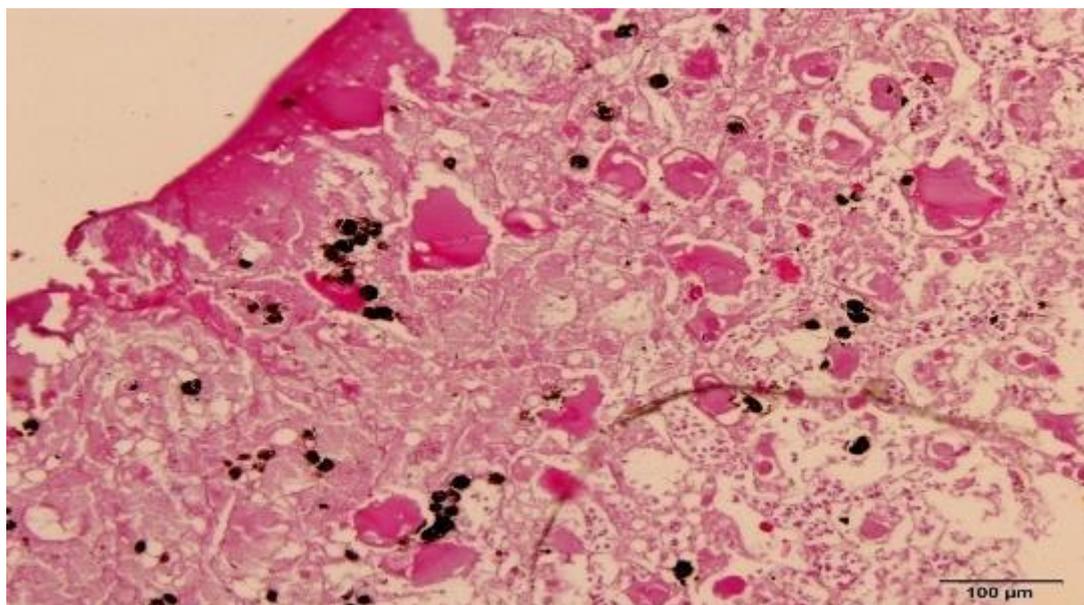


Figura 19. Edema hepático. Se observa edema eosinófilo difuso severo en la porción capsular del hígado. Además, se presenta degeneración de los hepatocitos generalizada severa. Microfotografía de hígado (E y H). 10x. *Atelopus limon* 2997-1. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

Las características principales presentes en esta lesión, es el edema que se ubicado en la porción capsular del hígado provocando engrosamiento y fibrosis del tejido conectivo, mientras que, la congestión pasiva crónica se localizó

principalmente en los sinusoides causando fibrosis en la triada porta, la vena centro lobulillar y otros vasos, a esto se podrían sumar agregados inflamatorios basofílicos como respuesta a la lesión (Jubb et al., 2007; Trigo, 2011). En la población estudiada no se presentó la proliferación de células inflamatorias en el hígado.

4.3. Principales hallazgos de los órganos secundarios

En los hallazgos encontrados en los órganos secundarios, se presentaron lesiones principales y secundarias, estas permitieron completar la información para la clasificación de las causas de muerte y se pudo conocer el estado sanitario de la población.

4.3.1 Sistema respiratorio

4.3.1.1. Diagnósticos principales en tráquea

Las lesiones principales en tráquea afectaron al 7.14% (1/14) de los individuos. El diagnóstico principal fue hipoplasia traqueal. En la tabla 10 se detallan los principales diagnósticos presentes en tráquea, la frecuencia y el número de identificación.

Tabla 10.

Diagnósticos principales en tráquea, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico tráquea	Frecuencia	Identificación
Hipoplasia traqueal	1/14	29971
Nada relevante	12/14	2802,2997, 29841,628, 2981, 2984, 3342, 2559, 2872, 2836, 2980, 2993,2808

4.3.1.1.1 Hipoplasia traqueal

En el individuo 29971 se observó discontinuidad en la conformación de uno de los anillos del tejido cartilaginoso; este estaba dividido en dos porciones y estas estaban sobrepuestas la una sobre la otra, esta fracción estaba recubierta por epitelio y en punto de la unión entre las dos partes una capa de epitelio los mantenía unidas. Esta alteración causó disminución en el diámetro la tráquea. En la porción superior se apreció necrosis focal y esta se encontró acompañada por agregados inflamatorios basofílicos mixtos moderados, congestión multifocal en la lámina propia y edema focal leve en la zona del epitelio (Figura 20).



Figura 20. Hipoplasia traqueal. Se encuentran los anillos de cartílago sobrepuestos y están unidos por un revestimiento de epitelio traqueal. En la porción superior se observa necrosis del tejido cartilaginoso con presencia de congestión, edema difuso y agregados inflamatorios basofílicos mixtos moderados. Microfotografía de tráquea (E y H). 10x. *Atelopus limon* 29971-7. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

Las anomalías congénitas a nivel de tráquea son comunes en animales domésticos y la alteración que se presenta con más frecuencia es la hipoplasia traqueal (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012). Este tipo de alteración se encuentra afectando directamente a las vías respiratorias superiores,

presentando obstrucción y estenosis traqueal; esta lesión no permite que haya una adecuada oxigenación en los individuos (Herrera et al., 2007; Pink, Doyle, Hughes, Tobin, & Bellenger, 2006).

En veterinaria se ha caracterizado a nivel de histopatología la hipoplasia traqueal en caninos de razas braquicéfalas y estos parámetros serán tomados como referencia para ser relacionados con los presentados en anfibios; ya que en estos no hay casos reportados.

Los aros de cartílago pueden estar completamente cerrados o sobrepuestos y disminuyen el diámetro luminal traqueal (Jubb et al., 2007). Mientras que, en el tejido traqueal se observó una pérdida del epitelio normal ciliado, también se observó hipertrofia de la mucosa, fibrosis dentro de la submucosa y necrosis de las glándulas. La lesión anteriormente relatada se encontró acompañada por agregados inflamatorios mononucleares (Pink et al., 2006).

La hipoplasia en tráquea de caninos difiere de la de anfibios. En el individuo 29971 no se presentó fibrosis en la submucosa, hipertrofia de la mucosa y necrosis en las glándulas, pero en este animal se presencié necrosis en el tejido del cartílago a diferencia del caracterizado en la literatura. Los hallazgos en común fueron, la disminución el diámetro luminal, pérdida del epitelio y la presencia de agregados inflamatorios basofílicos; posiblemente mononucleares.

4.3.2 Sistema gastrointestinal

4.3.2.1 Diagnósticos principales lengua

Las lesiones principales en lengua afectaron al 64.28% (9/14) de los individuos. Los diagnósticos principales fueron congestión y edema. En la tabla 11 se detallan de forma resumida los principales diagnósticos presentes en lengua, la frecuencia y el número de identificación.

Tabla 11.

Diagnósticos principales en lengua, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico lengua	Frecuencia	Identificación
Congestión y edema	9/14	2980, 2872, 2997, 2993, 29971, 29841, 2984, 2802, 2981
Nada relevante	5/14	628, 2836, 3342, 2808, 2559

4.3.2.1.1 Congestión y edema en lengua

En el 64.28 % (9/14) se localizó congestión en el epitelio papilar y en el tejido muscular de moderado a severo con la presencia de edema multifocal. Estas alteraciones anteriormente descritas, se encontraron acompañadas por agregados inflamatorios basofílicos difusos y leves (Figura 21).

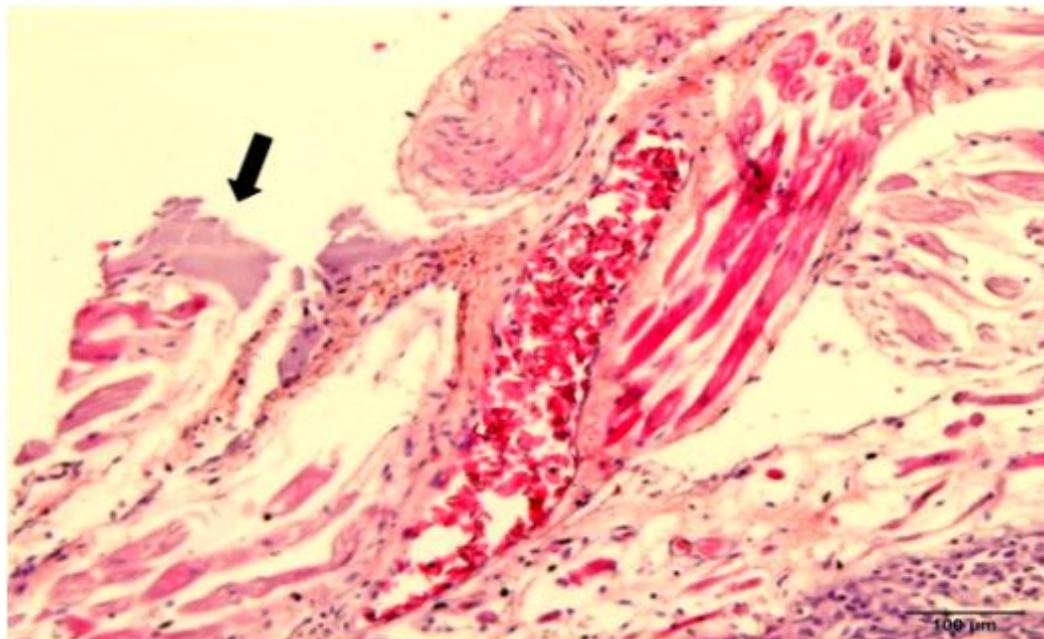


Figura 21. Congestión y edema. Se presencia congestión focal severa en el tejido muscular de la lengua y edema focal moderado en el epitelio papilar (flecha negra), esta lesión se encuentra acompañada por agregados inflamatorios difusos leves. Microfotografía de lengua (E y H). 10x. *Atelopus limon* 2981-5. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La congestión severa y el edema presente a nivel de lengua, es reconocida como una lesión, por lo tanto, el sistema inmunitario envía al tejido afectado agregados inflamatorios mixtos (Jubb et al., 2007).

La congestión y el edema moderado a severo presentado en los *Atelopus*, pueden hacer que los procesos de masticación y deglución de los animales sean dolorosos, además que, esto podría ocasionar inapetencia y letárgica (Zacary & McGavin, 2012).

4.3.2.2 Diagnósticos principales esófago

En esófago no se encontró nada relevante que puede ser tomado en cuenta para el estudio sanitario de la población en cautiverio. En la tabla 12 se encuentra resumidos los principales diagnósticos encontrados, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 12.

Diagnósticos principales en esófago, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico de esófago	Frecuencia	Identificación
Nada relevante	14/14	2802, 2981, 2993, 2980, 2984, 3342, 2872, 29841, 2836, 2808, 2559, 2997, 29971, 628

4.3.2.3 Diagnósticos principales estómago

Las lesiones principales en estómago afectaron al 42.86% (6/14) de los individuos. El diagnóstico principal fue gastritis leve. En la tabla 13 se hallan de manera resumida los principales diagnósticos encontrados en estómago, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 13.

Diagnósticos principales en estómago, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico estómago	Frecuencia	Individuos
Gastritis leve	5/14	29971, 628, 2981, 2993, 2984
Nada relevante	9/14	2872, 2997, 29841, 3342, 2980, 2802, 2559, 2808, 2836

4.3.2.3.1 Gastritis leve

En el 35.71% (5/14) se determinó la presencia de agregados inflamatorios basofílicos difusos en el epitelio y en lámina propia. La anterior lesión se

encontró acompañada por congestión multifocal leve en las fosas gástricas, en lámina propia y en la serosa.

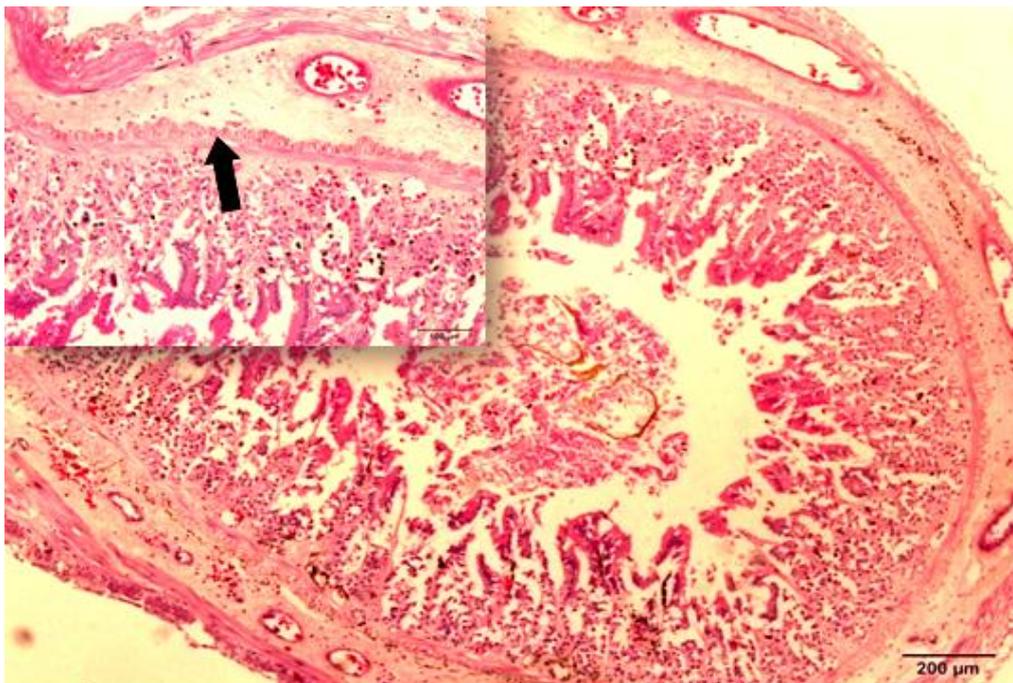


Figura 22. Gastritis leve. Se presencian agregados inflamatorios basófilos difusos moderados a severos en la mucosa del estómago y en la lámina propia. Microfotografía de estómago (E y H). 4x. Recuadro superior izquierdo. Se observan agregados inflamatorios basófilos difusos moderados en la lámina propia (flecha) y engrosamiento leve de la misma. 10x. *Atelopus limon* 2980-3. Fuente: Alvear-Santos, 2017.

La gastritis se relaciona con inflamación de la mucosa gástrica por una irritación química, sobre producción de gastrina, gastritis urémica y la presencia de parásitos (Jubb et al., 2007).

Esta gastritis leve presente en los anfibios, se podría relacionar con el estrés en cautiverio y con la gastritis urémica; por la presentación de insuficiencia renal crónica.

En la gastritis leve se puede observar agregados inflamatorios leucocitarios difusos y cambios vasculares por la inflamación (Jubb et al., 2007; Martineau, Thompson, Taylor, Road, & Glasgow, 2009). Esta descripción coincide con los hallazgos encontrados en la mucosa del estómago de los *Atelopus limon* muertos en el 2014.

4.3.2.4 Diagnósticos principales intestino delgado

A nivel intestino delgado el 28.57%(4/14) el diagnóstico fue indeterminado a causa de una mala conservación de los órganos. En la tabla 14 se encuentran de manera resumida los principales diagnósticos encontrados en intestino delgado, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 14.

Diagnósticos principales en intestino delgado, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico intestino delgado	Frecuencia	Individuos
Indeterminado	4/14	29971, 29841, 2980, 3342
Nada relevante	10/14	2802, 2997, 2836, 2559, 2872, 2997, 628, 2836, 2559, 2872

4.3.2.5 Diagnóstico intestino grueso

A nivel del intestino grueso, las lesiones afectaron al 14.28%(2/14) de los individuos. El diagnóstico principal fue enteritis parasitaria severa. En la tabla 15 encuentran de forma resumida los principales diagnósticos encontrados en intestino grueso, frecuencia y número de identificación.

Tabla 15.

Diagnósticos principales en intestino grueso, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico intestino grueso	Frecuencia	Individuos
Enteritis parasitaria	2/14	628, 2993
Indeterminado	6/14	29841, 2836, 3342, 2997, 2808, 2872
Nada relevante	5/14	29971, 2981, 2980, 2984, 2559,

4.3.2.5.1 Enteritis parasitaria

En el 14.28 %(2/14) se determinó enteritis parasitaria, se observó a nivel del intestino grueso múltiples formas redondas basofílicas con núcleos excéntricos; que recuerdan a diferentes estadios parasitarios, estas estructuras se ubicaron en mucosa, lámina propia y músculo. En la mucosa y lámina propia causaron áreas de necrosis multifocal.

Acompañando a esta alteración se observó agregados inflamatorios basofílicos difusos severos en la lámina propia.

Secundario a la lesión principal, en la lámina propia se encontró congestión multifocal leve.

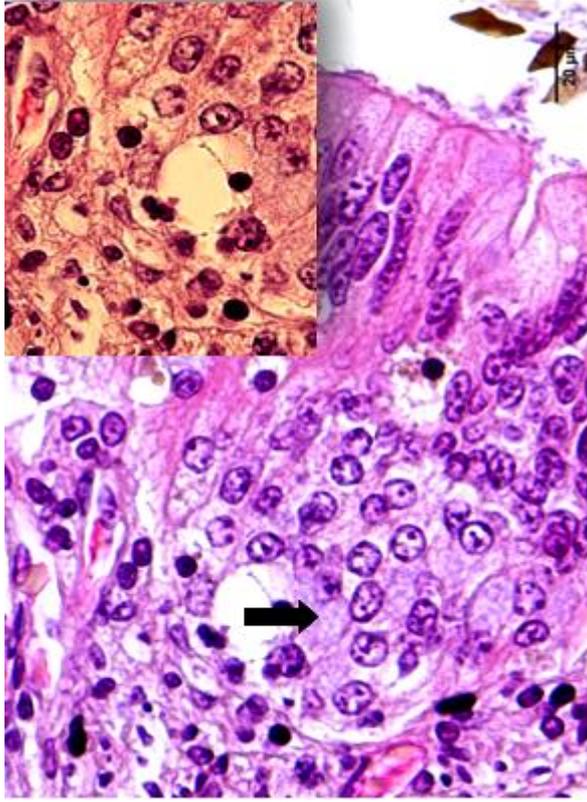


Figura 23. Enteritis parasitaria. Se observa necrosis en el epitelio y en la lámina propia del intestino grueso, a su vez dentro de estas zonas se observan estructuras redondas pequeñas basófilas con núcleos excéntricos compatibles con trofozoitos de *Entamoeba* spp (flecha). Se presencian agregados inflamatorios basofílicos mixtos severos acompañando a esta lesión. Microfotografía de intestino grueso (E y H). 40x. Recuadro superior derecho. Trofozoitos de *Entamoeba* spp. y necrosis de la lámina propia. 100x. *Atefopus limon* 2993-7. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

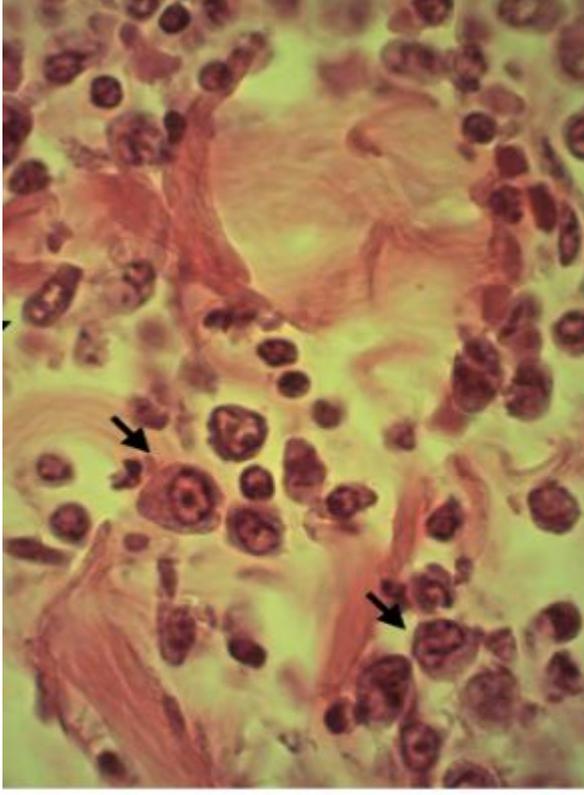


Figura 24. Enteritis parasitaria. Presencia de trofozoitos morfológicamente similares a *Entamoeba histolytica* (flechas negras) en la especie *Alouatta caraya*. El parásito ocasiona necrosis del tejido y esta lesión se encuentra acompañada por agregados inflamatorios basófilos mixtos severos. Microfotografía de intestino grueso (E y H). 100x. Fuente: Genoy-Puerto et al., 2016.

La enteritis parasitaria severa que afecto al 14.28% (2/14) de la población, fue producida por la *Entamoeba* spp., este es un protozooario intracelular obligatorio que habita en la luz del epitelio intestinal. Este parásito tiende a colonizar con mayor especificidad el epitelio del intestino grueso; en el cual ocasiona colitis sanguinolenta y mucoide de manera aguda o crónica severa. Posteriormente inician a migrar hacia la submucosa y lámina propia; produciendo necrosis del tejido (Zacary & McGavin, 2012). Los hallazgos descritos anteriormente son similar a los caracterizados en los *Atelopus limón*.

Se ha diagnosticado *Entamoeba* spp. en *Boa constrictor*, estos parásitos se han ubicado en el intestino grueso produciendo inflamación, hiperemia y necrosis y en alguno de los casos conduce a la muerte de los individuos; a causa de la hemorragia aguda presente en las heces y la deshidratación severa (Schmidt, Richter, Kübber-Heiss, & Weissenböck, 2008). Este hallazgo se tomará en cuenta como una causa de muerte por ser una lesión severa y compromete la vida de los animales en cautiverio.

En la lesión por *Entamoeba* en *Boa constrictor*, se observó necrosis en el epitelio, pseudomembrana y lámina propia (Hirashima, Manchanayake, Yano, Kitahara, & Shibahara, 2017). El hallazgo anteriormente descrito se visualizó agregados de neutrófilos activados en la lámina propia de tipo severo (Matsubayashi et al., 2016). Los hallazgos caracterizados en serpientes y anfibios fueron similares, por lo que, se podría confirmar que la forma de parasitar de la *Entamoeba* es igual en las dos especies.

La caracterización del parásito coinciden con varios autores, la *Entamoeba* spp. se puede ver en los tejidos como un parásito pequeño redondo, no ciliado, con un núcleo excéntrico; este se encuentra conformado por plaquetas de cromatina y pequeños endosomas (Gardiner, Payer, & Dubey, 1988; Genoy-Puerto et al., 2016; Matsubayashi et al., 2016; Schmidt et al., 2008).

4.3.3 Glándulas adosadas al sistema gastrointestinal

4.3.3.1 Diagnósticos principales vesícula biliar

A nivel de la vesícula biliar se encontró afectado el 50% (7/14) de los órganos y el diagnóstico principal fue fibrosis en la submucosa y subserosa. En la tabla 16 encuentran de forma resumida los principales diagnósticos encontrados en la vesícula biliar, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 16.

Diagnósticos principales en vesícula biliar, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico vesícula biliar	Frecuencia	Individuos
Fibrosis submucosa y subserosa	7/14	2802, 29971, 628, 2981, 2984, 2559, 29841
Indeterminado	1/14	2808
Nada relevante	6/14	2997, 2836, 2993, 2980, 3342, 2872

4.3.3.1.1 Fibrosis en la lámina propia

En el 50% (7/14) de la población en el epitelio de la vesícula biliar se caracterizó hipertrofia leve de las células cubicas epiteliales y fibrosis severa en la subserosa y submucosa. Internamente se localizaron estructuras pleomórficas, en donde prevalecen las formas redondas, pentagonales y ovaladas. El estroma de estas formas es fibroso y de coloración eosinófila; estas estructuras recuerdan a cristales de colesterol. Por lo que, este hallazgo es compatible con colelitiasis. (Figura 25).

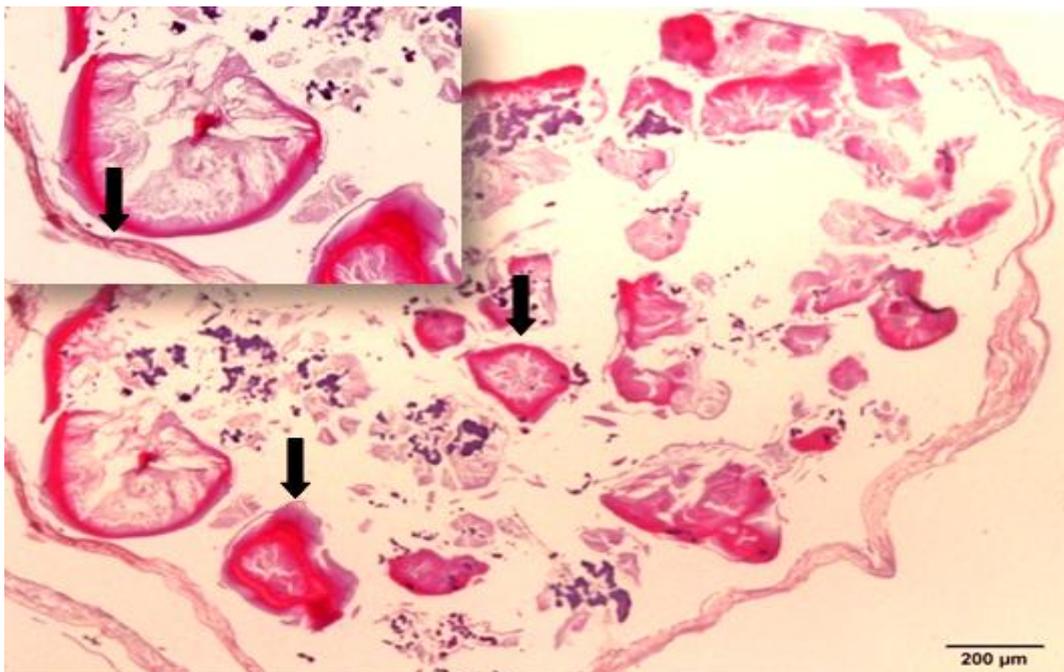


Figura 25. Colelitiasis. Se observa el tejido vesicular extendido, en la submucosa y subserosa se presencia fibrosis generalizada severa. Mientras que, en el epitelio las células presentaron hipertrofia focal leve. Internamente se encontraron múltiples estructuras pleomórficas basófilas y eosinófilas de varios tamaños, el estroma de estas formas es fibroso y son compatibles con cálculos biliares de colesterol (flecas negras). Microfotografía de vesícula biliar (E y H). 4x. Recuadro superior izquierdo. Cálculo de colesterol y fibrosis de la lámina propia (flecha negra) y un aumento del grosor moderado. 10x. *Atelopus limón* 2802-1. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La presencia de colelitiasis o cálculos biliares es infrecuente y poco diagnosticada en veterinaria; a menos que se presente una obstrucción de los conductos biliares. Estos cálculos biliares se encuentran conformados por colesterol, pigmentos biliares, sal de ácidos biliares, sales de calcio y de matriz proteinácea. Estos elementos hacen que en histología los cálculos presenten pigmentación eosinófilas y las formas sean irregulares (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

La formación de los cálculos biliares es incierta, pero se cree que se debe a la presentación de una colecistitis crónica o una sobreproducción, saturación de las sales biliares o por una dieta alta en lípidos. (Jubb et al., 2007).

Ocasionalmente, los cálculos pequeños pueden producir obstrucción de los conductos biliares causando ictericia, mientras que los cálculos de mayor tamaño presionan la vesícula biliar y se puede producir ulceración y necrosis

de la mucosa (Jubb et al., 2007). En el grupo de los animales que presentaron colelitiasis no se observó ninguna de estas alteraciones anteriormente descritas, pero estos parámetros deberían ser tomados en cuenta en futuras investigaciones.

Macroscópicamente, los cálculos biliares presentan una coloración mixta, de amarillo oscuro y verde oscuro, estos colores se dan por la presencia de bilirrinato de calcio (Kumar, Abbas, et al., 2013; Memon, Khanzada, Samad, & Kumar, 2011; Zacary & McGavin, 2012). La descripción de la coloración macroscópica explicada anteriormente de los cálculos biliares fue similar en anfibios, estos se presentaron abundantes y midieron entre 0.2 a 0.5 mm.

En una colelitiasis crónica, la mucosa de la vesícula biliar se presenta extendida o de tamaño normal; con presencia de cálculos biliares internos. No hay presencia de inflamación, la ulceración de la mucosa es infrecuente y posiblemente la submucosa y subserosa se pueden estar engrosadas por la presentación de una fibrosis (Kumar, Abbas, et al., 2013). Esta alteración coincide con la caracterización histopatológica presentada el 50% (7/14) de la población de *Atelopus limon*, por lo que, esta lesión crónica puede ser incluso asintomática en algunos casos; cuando no se presenta, obstrucción, inflamación, ulceraciones o necrosis.

4.3.3.2 Diagnósticos principales páncreas

A nivel de páncreas el diagnóstico fue indeterminado a causa de una mala conservación de los tejidos. En la tabla 17 se encuentran de manera resumida los principales diagnósticos encontrados en páncreas, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 17.

Diagnósticos principales en páncreas, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnósticos páncreas	Frecuencia	Individuos
Indeterminado	14/14	29971, 29841, 3342, 2802, 2997, 628, 2993, 2980, 2808, 2872, 2836, 2981, 2984

4.3.3.3 Diagnósticos principales bazo

A nivel de bazo se encontró afectado el 100% (14/14) de los órganos, los diagnósticos principales fueron, depleción de la pulpa blanca, pulpa roja y congestión. En la tabla 18 se encuentra de manera resumida los principales diagnósticos presentes en bazo, la frecuencia y el número de identificación.

Tabla 18.

Diagnósticos principales en bazo, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico bazo	Frecuencia	Individuos
Depleción severa de la pulpa roja	9/14	628, 2802, 2997, 29971, 2984, 2836, 2559, 2872, 2981
Depleción de la pulpa blanca y roja moderada, congestión multifocal moderada	5/14	2993, 3342, 29841, 2980, 2808

4.3.3.3.1 Depleción de la pulpa roja

En el 100% (14/14) de los individuos se determinó depleción de la pulpa roja generalizada y en los individuos 3993, 628 y 2981 esta alteración fue acompañada por congestión multifocal leve a moderada.

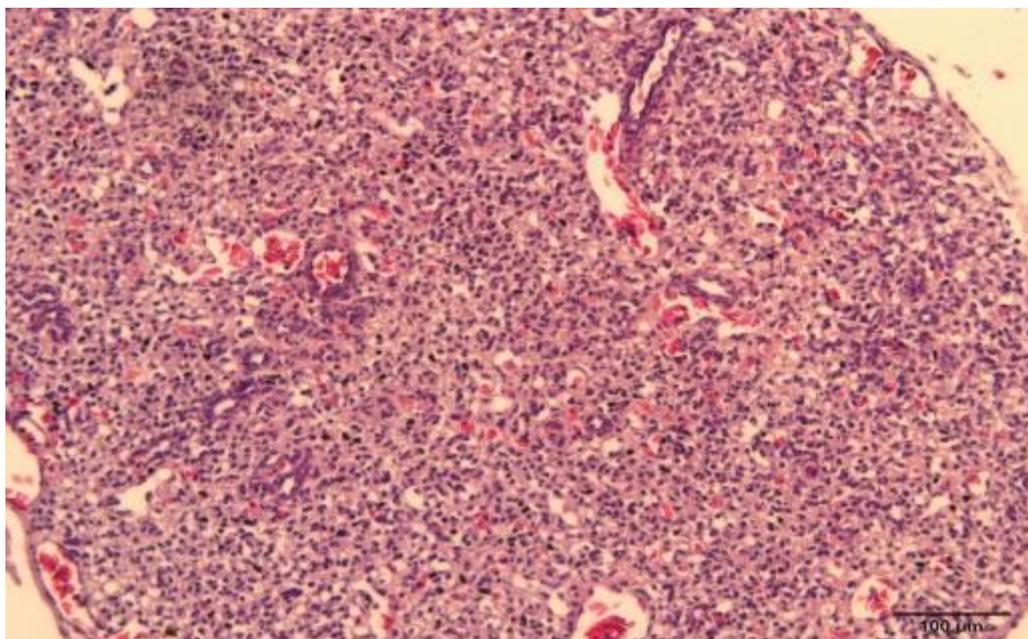


Figura 26. Depleción de pulpa roja. Se encuentra disminución generalizada severa de la pulpa roja. En las arterias centrales y vasos periféricos se observa congestión multifocal leve. Microfotografía de bazo (E y H). 10x. *Atelopus limon* 628-2. Fuente. Alvear-Santos, 2018.

La disminución de la pulpa roja en el bazo, se puede relacionar directamente con un estrés crónico; por la vasoconstricción que se produce constantemente (Hill, Wyse, & Anderson, 2006; Trigo, 2011). Si la situación de estrés continua prolongándose, es necesario obtener mayor cantidad de sangre y esta puede provenir de las reservas de médula ósea y bazo (Trigo, 2011; Zacary & McGavin, 2012). La fisiopatología del estrés crónico puede encontrarse relacionada con la presentación una contracción esplénica en animales que están en cautiverio por varias años, como es el caso de los *Atelopus limon*.

Este tipo de alteración se ha observado en animales en cautiverio de la especie *Gastrotheca riobambae*, en donde se ha caracterizado contracción esplénica y por consecuencia una disminución de la pulpa roja. Esta respuesta puede

relacionarse al estrés por el cautiverio o por huida cuando son manipuladas por el personal (Quishpe, 2016).

El resultado obtenido en el estudio de Quishpe (2016), se puede comparar con los hallazgos de la caracterización histopatológica de los *Atelopus limon*, ya que los animales provienen del mismo centro de conservación y el manejo es similar, por lo que, se puede confirmar que el estrés y las patologías cardiovasculares están provocando una disminución de pulpa roja en el bazo en estos ejemplares.

4.3.3.3 Depleción linfoide

En el 35.71% (5/14) se presentó una depleción de la pulpa blanca de leve a moderada y en el individuo 2993, esta alteración se visualizó congestión multifocal en arterias centrales y vasos periféricos.

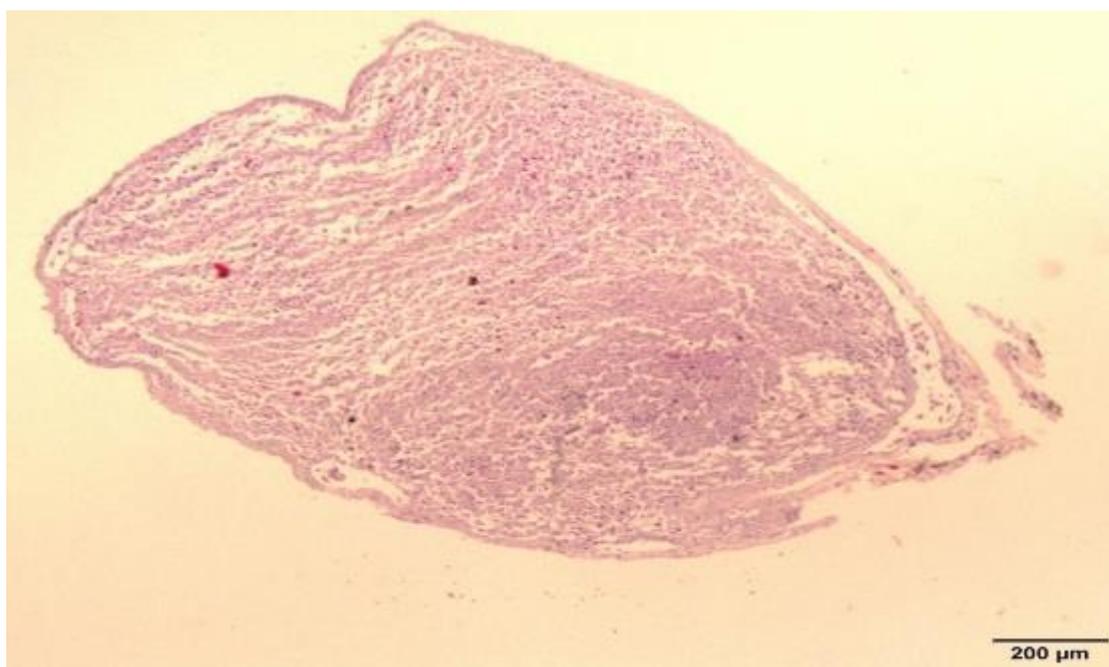


Figura 27. Depleción de pulpa blanca y roja severa. Se observa disminución de la pulpa blanca y roja generalizada severa e incluso se visualiza en algunas zonas espacios vacíos. Microfotografía de bazo (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2984-2. Fuente. Alvear-Santos, 2018.

La depleción linfoide se aprecia como una disminución de la pulpa blanca a comparación de la roja y esto se puede producir cuando hay presencia de

inflamaciones severas o crónicas (Jubb et al., 2007; Kumar, Habbas, et al., 2013). Esta alteración se presentó en el 35.71% (5/14) de la población y los hallazgos coinciden con los descritos en los textos de patología. Por otro lado, la disminución de la pulpa blanca se puede relacionar con las diferentes patologías inflamatorias encontradas en los *Atelopus limon*, como son la insuficiencia renal crónica, miocarditis, amebiasis, entre otros.

En histopatología se ha caracterizado esta alteración en anuros de la especie *Gastrotheca riobambae*, en esta se observó disminución de la pulpa blanca con relación a la pulpa roja en el bazo (Quishpe, 2016).

4.3.4 Sistema músculo-esquelético

4.3.4.1 Hueso

Las lesiones principales en hueso afectaron al 92.85% (13/14) de los individuos, encontrándose como diagnóstico principal osteodistrofia. En la tabla 19 se detallan los principales diagnósticos de manera resumida en hueso, la frecuencia y el número de identificación.

Tabla 19.

Diagnósticos principales en hueso, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico hueso	Frecuencia	Individuos
Osteodistrofia	13/14	2802, 2997, 29971, 29841, 628, 2836, 2981, 2993, 2984, 2808, 2559, 2872, 2980
Nada relevante	1/14	3342

4.3.4.1.1 Alteraciones en tejido óseo vertebral

Estas alteraciones que afectan al tejido ósea se presentaron en el 85.71% (12/14) de la población.

En los individuos 2802, 2997, 29841, 2984, 2993, 2808, 2872, 628, 2836, 2981, se presenció discontinuidad ósea, disminución de los osteocitos, canalículos y osteonas. Mientras que, las lagunas de osteoclastos y las trábeculas se encontraron con un aumento de diámetro severo.

En el individuo 2559 se visualizó en el tejido óseo una disminución de los osteocitos generalizado severo y en individuo 2808 se observó reparación ósea focal en el periostio.

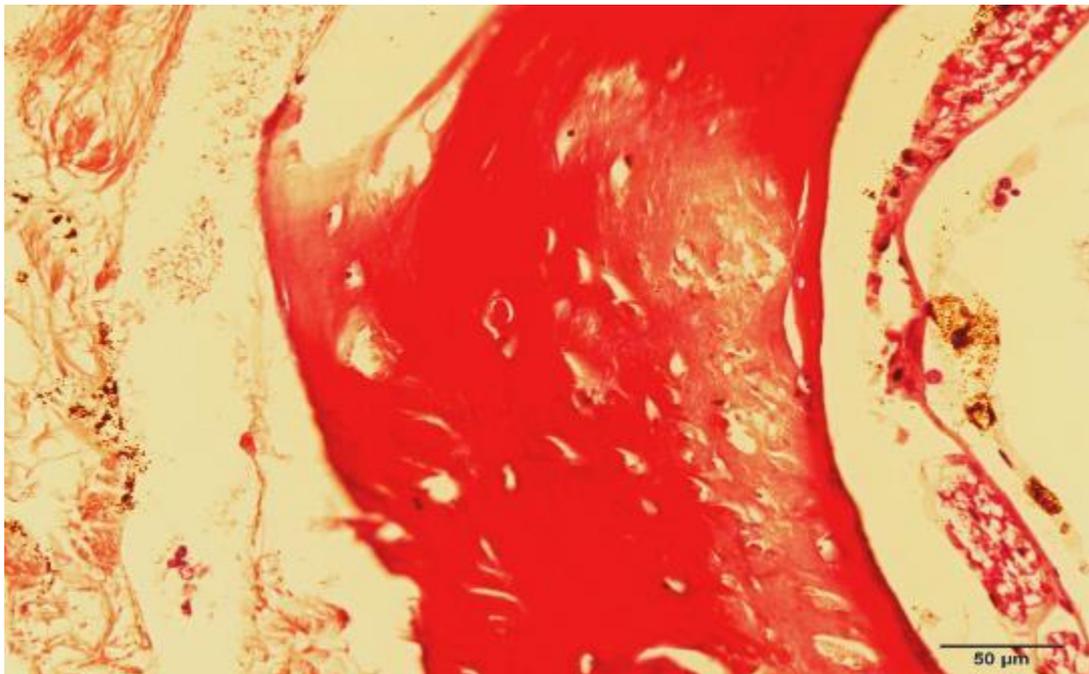


Figura 28. Osteomalacia. Disminución de los osteoblastos, osteoclastos y osteocitos generalizado severo. Además, se presenta deficiente tejido osificado, por lo que, se encuentra discontinuidad del tejido óseo generalizado severo. Microfotografía de hueso vertebral (E y H). 20x. *Atelopus limon* 2872-10. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

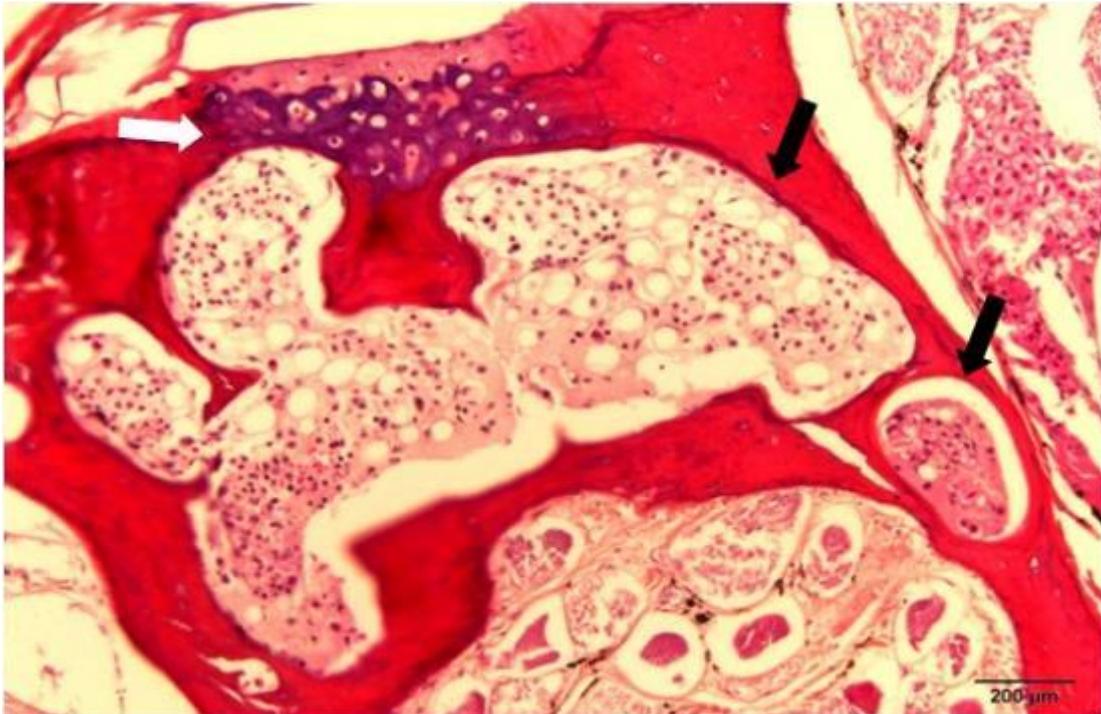


Figura 29. Osteodistrofia. Se visualiza un aumento de las lagunas de osteoclastos y aumento del tamaño de las trabéculas generalizado severo (flechas negras), este hallazgo es compatible con reabsorción ósea. En la porción superior se observa una regeneración del periostio focal (flecha blanca). Microfotografía de hueso vertebral (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2808-15. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.3.4.1.2 Alteraciones en agujero vertebral y médula

En los individuos 2802, 2872 y 628, en el agujero vertebral se presentó un aumentado del diámetro.

En los ejemplares 2836 y 2808, se observó una discontinuidad del tejido óseo que conforma el agujero vertebral, esto ocasionó que el tejido nervioso y medular se desborde hacia la periferia y limita directamente con el tejido muscular.

El tejido medular se encontró disminuido de manera moderada a severa en todos los individuos.

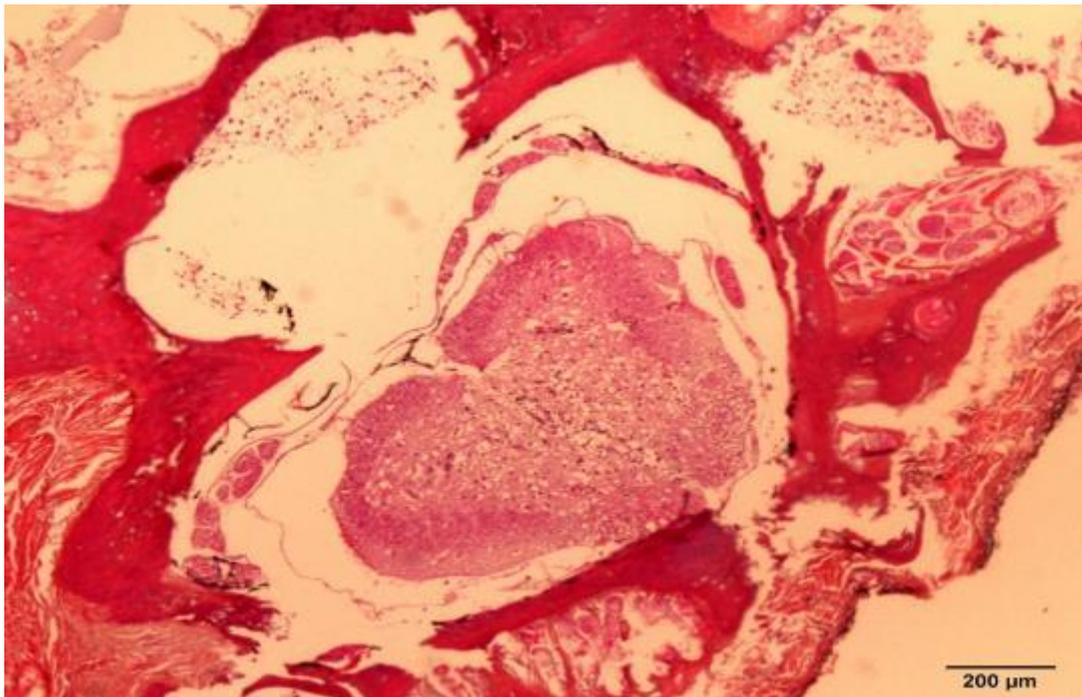


Figura 30. Osteodistrofia en el agujero vertebral. Se observa una discontinuidad en la conformación del agujero vertebral que ocasiona un aumento de tamaño del mismo. La médula ósea se encuentra disminuida generalizada moderada. Microfotografía de hueso vertebral (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2802-11. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

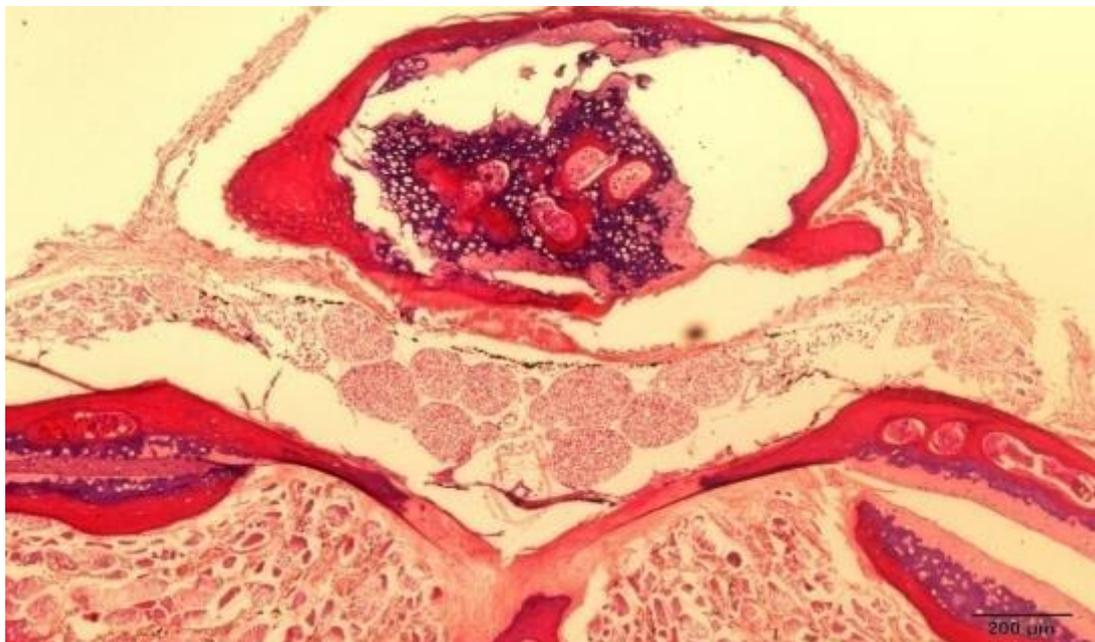


Figura 31. Osteodistrofia en el agujero vertebral. Se presencia ausencia del tejido óseo que conforma el agujero vertebral generalizado severo, esta alteración ocasiona que el tejido nervioso y medular limiten directamente con el musculo paravertebral (flecha negra). Microfotografía de hueso vertebral (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2808-15. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.3.4.1.3 Alteraciones en el cuerpo vertebral

En el individuo 2802 y 2993, se presentó en el cuerpo vertebral una discontinuidad en el grosor; dándole forma de media luna, por otro lado, el cartílago se ubicó excéntricamente.

En el ejemplar 628 se visualizó un aumento en el tamaño del cuerpo vertebral.

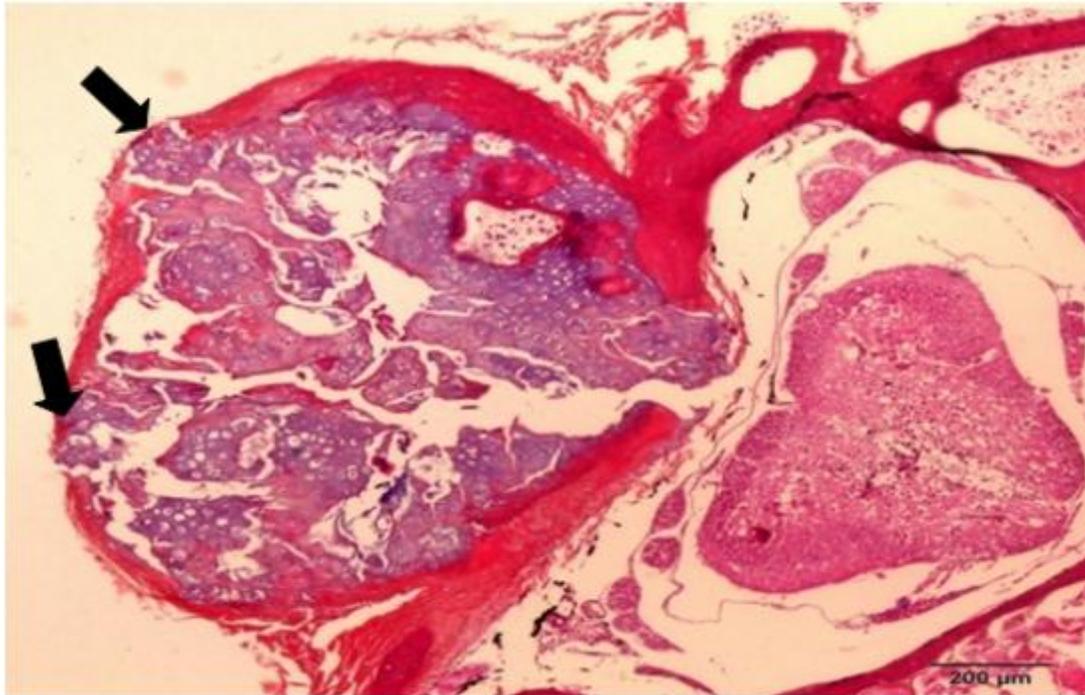


Figura 31. Osteodistrofia en el cuerpo vertebral. Se determina aumento del tamaño del cuerpo vertebral severo. El tejido óseo presenta discontinuidad del grosor y en algunas zonas hay deficiencia de tejido y salida del tejido cartilaginoso multifocal severo (flechas negras). Microfotografía hueso vertebral (E y H). 4x. *Atelopus limon* 628-11. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

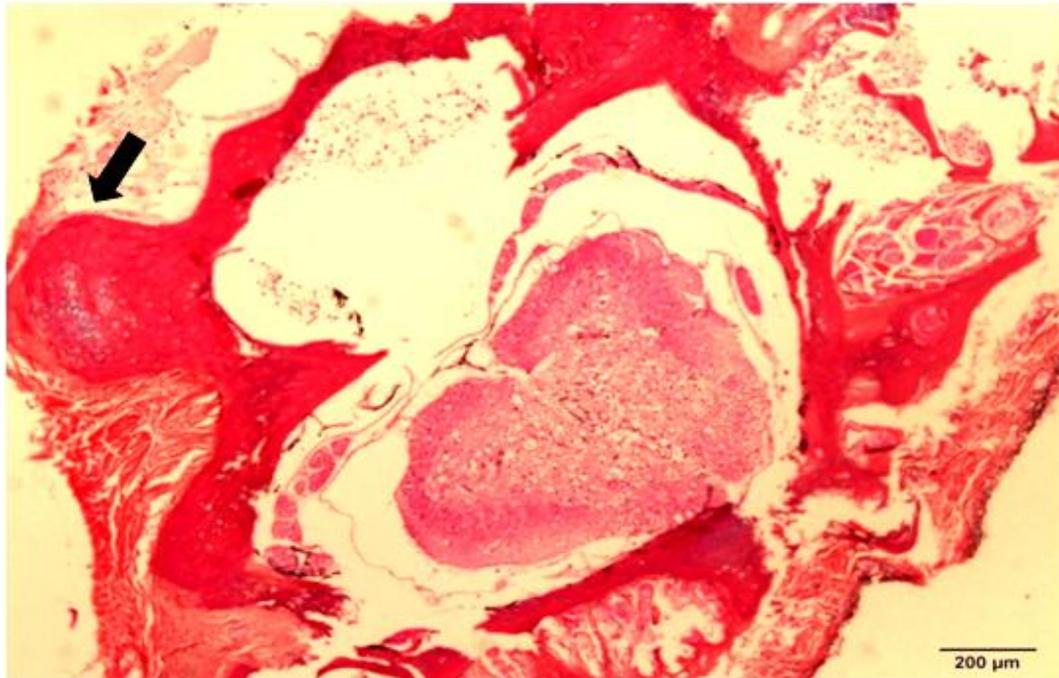


Figura 32. Osteodistrofia en el cuerpo vertebral. Se observa discontinuidad en el grosor y conformación del cuerpo vertebral, esta alteración le da una forma de media luna y el tejido cartilaginoso se ubicó excéntricamente, además el cartílago está disminuido (flecha negra). Microfotografía hueso vertebral (E y H). 4x. *Atelopus limon* 2802-11. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.3.4.1.4 Alteraciones en apófisis transversas

En las apófisis transversas de los individuos 2808 y 2559, se localizó reparación del tejido óseo con la presencia de una proliferación de condrocitos focal.

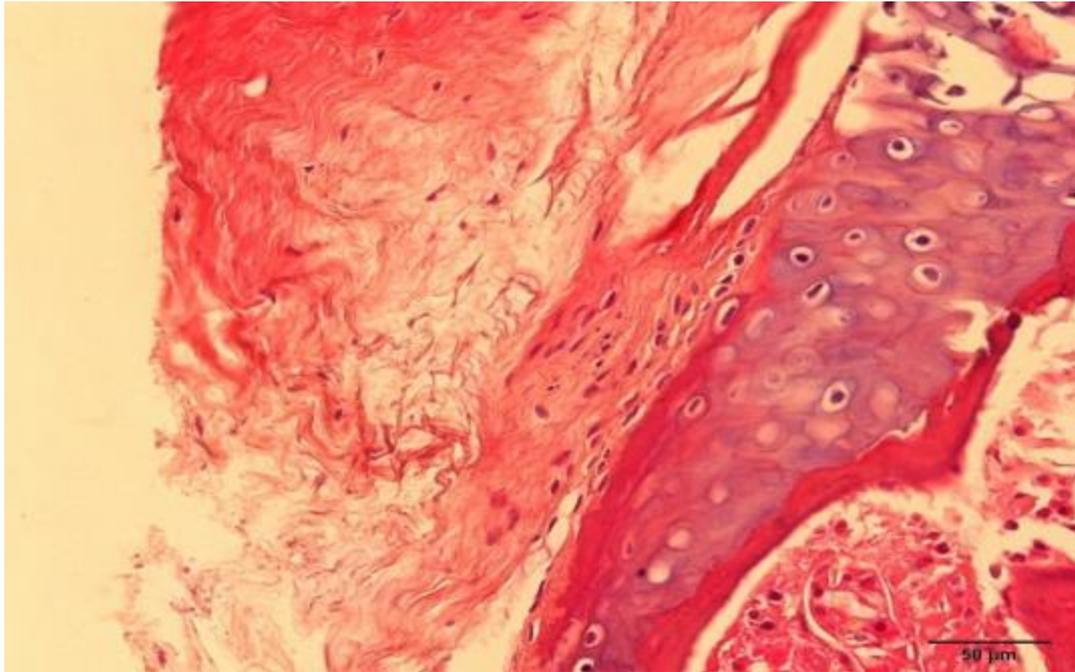


Figura 33. Regeneración ósea en apófisis. Se observa proliferación de condrocitos focal e inicio de osificación. Microfotografía de hueso vertebral (E y H). 20x. *Atelopus limon* 2808-15. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

4.3.4.1.5 Alteraciones en músculo paravertebral

Se determinó en los individuos 2802 y 2993 a nivel del tejido muscular, un aumento en el endomisio generalizado. En esta alteración se estaba acompañada por degeneración y necrosis muscular.

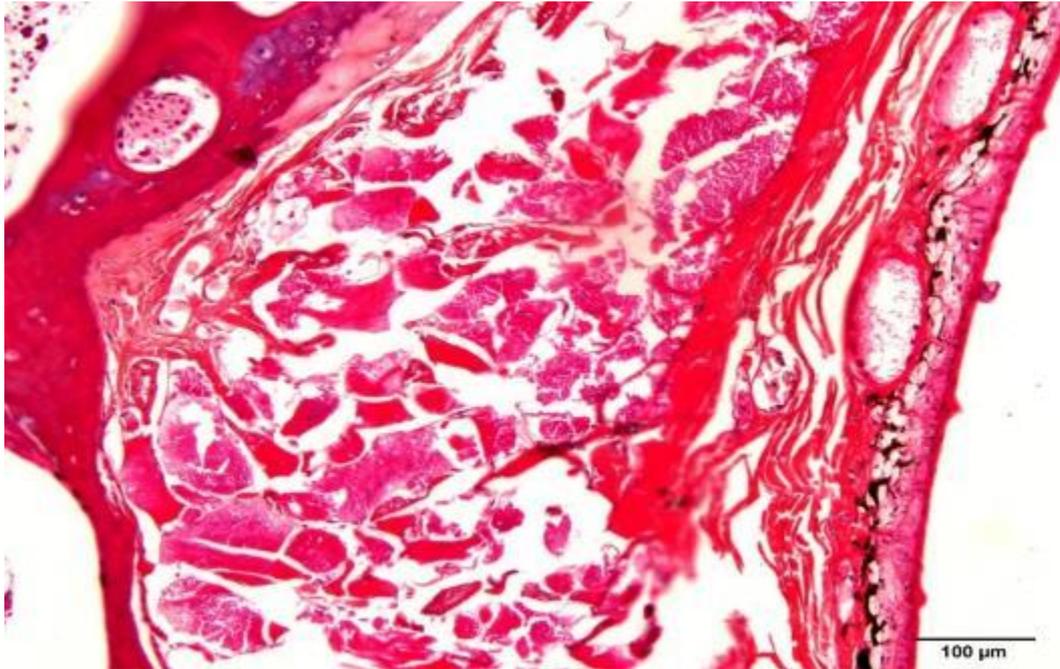


Figura 34. Degeneración muscular paravertebral. Se aprecia aumento en el endomisio de manera generalizada. Las fibras musculares se encuentran degeneradas generalizadas severas con necrosis multifocal. Microfotografía músculo paravertebral (E y H). 10x. *Atelopus limon* 2802-11. Fuente: Alvear Santos, 2018.

Las alteraciones óseas pueden ser producidas por una variedad de anomalías genéticas, además se pueden producir durante la etapa embrionaria, en el desarrollo juvenil y en la vida adulta; por la presencia de enfermedades metabólicas. Estas lesiones se caracterizan por presentar en los huesos una corta estatura, anomalías en la forma o el incremento de la fragilidad y se localizan comúnmente en la columna vertebral como escoliosis, sifosis y lordosis (Jubb et al., 2007; Witzmann et al., 2014).

Varias de las alteraciones definidas anteriormente se diagnosticaron en los ejemplares que forman parte de este estudio, se pudo confirmar la presencia de estas mediante el examen físico. Mientras que, anomalías específicas de la conformación ósea se observaron por diagnóstico histopatológico.

En anfibios la presentación de enfermedades óseas es muy concurrente, ya que en las poblaciones en cautiverio es muy común que haya una carencia en el organismo de estas especies de calcitrol. Esto ocurre cuando la vitamina D

exógena no puede ser sintetizada por deficiencia de luz ultravioleta para la producción de calcitrol. Por lo tanto, se desencadena la enfermedad metabólica nutricional. Esta patología además, ocasiona problemas reproductivos y disminución en el funcionamiento del sistema inmunitario (Antwis & Browne, 2009)

La enfermedad nutricional metabólica se desencadena por los desequilibrios metabólicos de calcitrol, vitamina D, calcio y fósforo. El calcio no puede ser asimilado por la falta de calcitrol y esto hace que las reservas de calcio en los huesos se agote y se produzcan las osteodistrofias severas al activarse la parathormona (Antwis & Browne, 2009).

Por otro lado, las enfermedades metabólicas óseas, también se pueden producir por insuficiencia renal crónica; como las presentadas en los Atelopus. La hiperfosfatemia produce una hipocalcemia y consecuentemente esto provoca la activación de la paratohormona; para el equilibrio sérico de calcio-fósforo y esta hormona inicia a retirar e calcio de las reservas óseas mediante los osteoclastos (Klaphake, 2010; Talmage & Mobley, 2008; Zacary & McGavin, 2012).

Las lesiones microscópicas en las osteodistrofias se caracterizan por una inadecuada mineralización, disminución del número de los osteocitos, osteoblastos, las lagunas de osteoclastos y las trábeculas están aumentadas de tamaño y la conformación de los huesos es irregular. (Jubb et al., 2007; Trigo & Elizondo, 2004; Zacary & McGavin, 2012).

En salamandras gigantes chinas juveniles, se ha caracterizado por medio de histopatología una escoliosis. Se presentó irregularidad en la conformación del agujero vertebral; este se encontró comprimido lateralmente. (Liu, Niu, Wang, Chen, & Li, 2016). Esta alteración puede ser similar a la observada en los individuos que formaron parte del estudio, pero hay que tomar en cuenta que este tipo de lesiones pueden presentar variaciones infinitas y nunca las lesiones van a ser iguales en los individuos afectados.

En las mismas salamandras, se presentó en el tejido óseo una disminución de canalículos y osteocitos severa. Además, se localizaron varios espacios vacíos entre los osteocitos y las lagunas de osteoclastos. Por otro lado, el músculo paravertebral se presentó desordenado, con una hiperplasia de los miocitos y aumento en el tamaño del endomisio (Liu et al., 2016).

A nivel del cuerpo vertebral se ha realizado la caracterización en anuros de la especie *Agalychnis spurrellii*, en estos se encontró irregularidad en el grosor, conformación y tejido cartilaginoso se localizó de forma excéntrica (Ortega, 2016).

La presencia de debilidad y fragilidad ósea, ocasiona que los animales sean más propensos a presentar fracturas, por lo tanto, en histopatología la regeneración y remodelación ósea se pueden observar como una proliferación de condrocitos y osteoblastos en la zona afectada (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012). Esta regeneración se pudo encontrar en las apófisis transversas y el periostio, ya que estas áreas están más expuestas a sufrir golpes.

Finalmente, todas las displasias esqueléticas presentes perjudican al bienestar de los animales. Estas alteraciones dificultan la movilidad para el escape; cuando hay depredadores, ocasiona problemas en la movilidad para cazar las presas para alimentarse. Este tipo de lesiones son dolorosas y terminan siendo semi-letales o letales en algunos casos (Jubb et al., 2007; Liu et al., 2016).

4.3.4.2 Músculo

A nivel de músculo se encontró afectado el 71.43% (10/14) de los órganos. El diagnóstico principal fue miopatía. En la tabla 20 se encuentran de manera resumida los principales diagnósticos encontrados en músculo, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 20.

Diagnósticos principales en músculo, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico músculo	Frecuencia	Individuos
Miopatía	10/14	29841, 628, 2936,3342,2808, 2559, 2872, 2802, 2997,29971
Nada relevante	4/14	2981, 2993, 2980, 2984

4.3.4.2.1 Miopatía

En el 71.42% (10/14) se determinó degeneración de las fibras musculares generalizada severa y en algunas zonas del tejido se visualizó necrosis multifocal. Además, el endomisio se observó aumentado de tamaño severo.

Acompañando a la degeneración muscular, se localizó regeneración del tejido multifocal. Este se caracterizó por la presencia de miotubos, los cuales se conformaron por una proliferación de células satelitales, fibroblastos y mioblastos. La anterior alteración se encontró acompañada por agregados inflamatorios polimorfonucleares multifocales leves y melanomácrofagos activos multifocales.

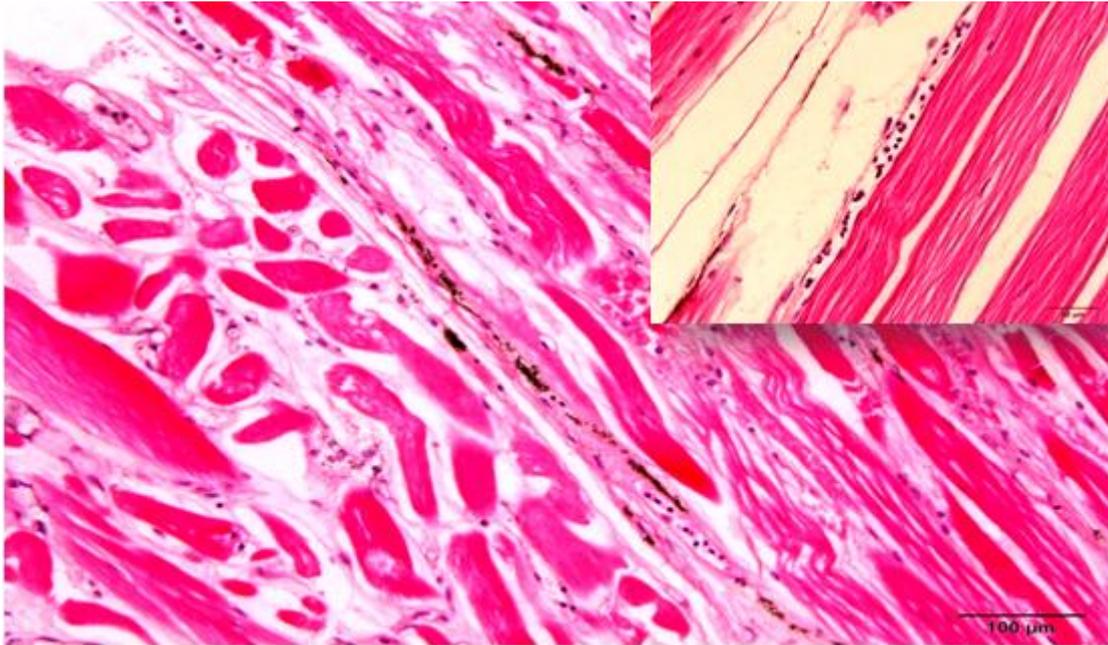


Figura 34. Miopatía. Se presencia degeneración, necrosis y regeneración muscular. La degeneración se localiza generalizada severa, esta lesión causa necrosis multifocal y esta alteración está acompañada por agregados basófilos mixtos difusos severos y agregados de melanomácrofagos activos multifocales. Mientras que, en las zonas afectadas con degeneración muscular, se observa regeneración multifocal; conformada por miotubos y se caracterizan por la proliferación de células satelitales, fibroblastos y mioblastos. Microfotografía de músculo (E y H). 10x. Recuadro superior derecho. Se encuentra degeneración muscular, un miotubo y necrosis. 100x. *Atelopus limon* 2872-9. Fuente: Alvear-Santos, 2018.

La miopatía se puede encontrar asociado a un excesivo ejercicio, estrés post captura, degeneración muscular por deficiencia de vitamina D, reabsorción muscular por estrés crónico o mala nutrición (Bartoszewska & Kamboj, 2010; Herra, Sierra, Arbelo, Jaber, & Ferna, 2007; Herráez et al., 2013; Hill et al., 2006).

Se ha caracterizado miopatía en *Stenella coeruleoalba* que ha sufrido estrés severo. Se pudo observar agregados inflamatorios con degeneración de las fibras moderadas a severas y acompañado a este hallazgo, se encontró necrosis multifocal. Esta alteración se puede relacionar directamente por el elevada presentación de los corticoides y el ácido láctico (Herráez et al., 2013)

La regeneración muscular solamente se puede realizar si las células satelitales sobrevivan al daño, por lo que, en las zonas de necrosis esta alteración no se encontró presente.

Microscópicamente, se puede observar a las fibras segmentadas y onduladas, posteriormente se rodearan de células satelitales; las cuales permiten la división mitótica, luego de 12 horas; se observa la migración de macrófagos; que vienen a retirar la debris y estos vienen acompañados por neutrófilos y eosinófilos (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

Cuando la regeneración se realiza sin complicaciones los agregados inflamatorios desaparecen y los mioblastos incrementan el número hasta forma un fuso y en 5 días se crean los miotubulos; con núcleos gigantes, que posteriormente se van dividiendo y finalmente en 15 días se crea un sarcomero con fibras elongadas (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012). En el músculo de los *Atelopus* se presentó regeneración, por lo que, la miopatía en estos animales sería una lesión crónica.

4.3.5 Sistema tegumentario

4.3.5.1 Piel

A nivel de piel se encontró afectado el 21.43%(3/14) de los órganos. El diagnóstico principal fue hiperqueratosis e hiperplasia multifocal. En la tabla 21 se encuentran de forma resumida los principales diagnósticos en piel, la frecuencia y número de identificación.

Tabla 21.

Diagnósticos principales en piel, la frecuencia de presentación y el número de identificación de los animales afectados.

Diagnóstico piel	Frecuencia	Individuos
Hiperplasia difusa e hiperqueratoris multifocal leve	3/14	2802, 2872, 2836
Indeterminado	3/14	29841, 3342, 2808
Nada relevante	8/14	2997, 29971, 628, 2981, 2993, 2980, 2984, 2559,

4.3.5.1.1 Hiperplasia difusa e hiperqueratosis multifocal leve

En la capa cornea de la piel se visualizaron estructuras redondas basófilicas puntiformes compatibles con estadios de zoosporangios de *Batrachochytrium dendrobatidis*. Mientras que, en la capa granulosa y espinosa se localizan múltiples estructuras redondas vacías o con vestigios, en donde anteriormente se encontraban algunas estructuras de las zoosporas. Acompañando al anterior hallazgo, se apreció una hiperplasia en la epidermis difusa, con una leve queratinización multifocal e hipertrofia focal de la capa cornea. Además, en la dermis se localizó congestión multifocal moderada a severa y una leve presencia de neutrófilos.

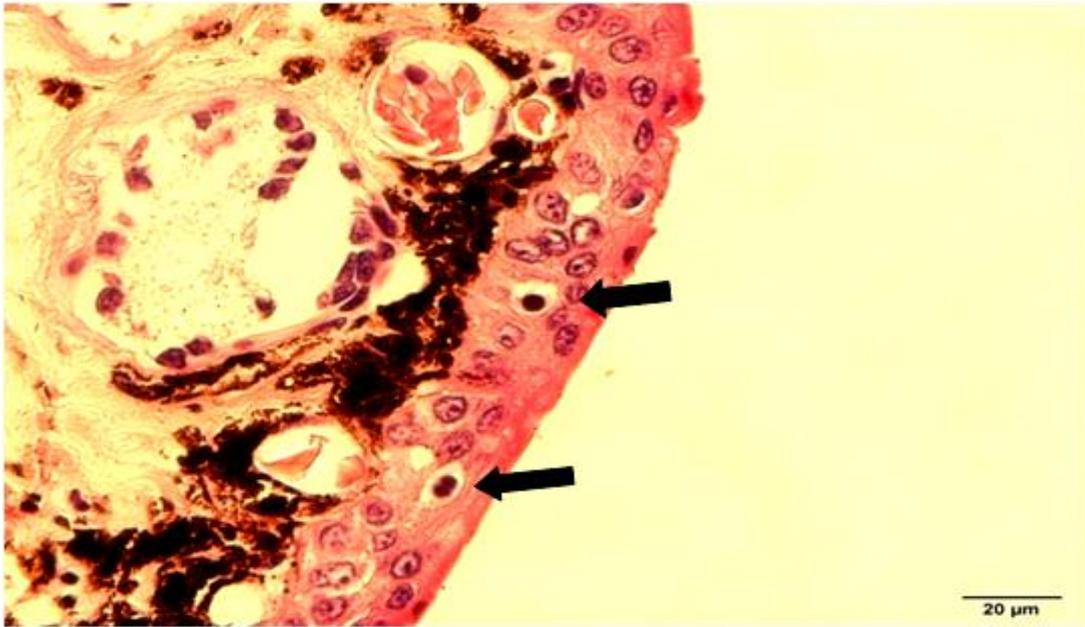


Figura 35. Hiperplasia difusa e hiperqueratosis multifocal. Se presencia zoosporangios de *Batrachochytrium dendrobatidis* multifocal (flechas negras). Microfotografía de piel (E y H). 40x. *Atelopus limon* 2802-9. Fuente: Alvear-Santos, 2017.

La quitridiomycosis ha sido descrita como una enfermedad emergente de la piel de los anfibios, esta se ha presentado en cautiverio y vida silvestre. Esta patología se ha diseminado a nivel mundial, por lo tanto, ha ocasionado declives poblacionales importantes (Mutschmann, 2015; Pessier, 2014).

El agente causal es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, este hongo generalmente se ubica en la epidermis; produciendo una marcada hiperplasia en la misma y acompañada por un hiperqueratosis (Martel et al., 2013; Pessier, 2014).

La presencia del hongo en histopatología, se puede ubicar en la capa de queratina y en la epidermis, estos esporangios pueden estar desarrollados y se observan como estructuras redondas basofílicas incrustadas, en otros casos, se encuentran vacíos y se pueden localizar saliendo de la epidermis al exterior; con presencia de un desprendimiento de la misma.

Esta patología altera el intercambio gaseoso de la piel en los anfibios produciendo acidosis respiratoria y toxemia por las toxinas del mismo hongo;

solamente cuando la cantidad presente es muy severa, pero en otros casos esta alteración no es representativa (Pessier, 2014).

La caracterización del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* coincide con los hallazgos presentados en los individuos 2802, 2872 y 2836, por lo que, se puede confirmar el diagnóstico de la presentación de este patógeno en cautiverio y que podría estar afectando la salud de los animales dentro del Centro de conservación.

4.4 Causas de muerte

Los resultados se obtuvieron a partir de los diagnósticos principales de cada individuo. En el 71.43% (10/14) la causa de muerte se relacionó con un choque cardiogénico; relacionado a la una insuficiencia cardíaca congestiva por una compensación fisiológica a una hipoxia ambiental, mientras que, en el 21.43% (3/14) se produjo un choque hipovolémico debido a una hiperemia, hemorragia y presencia de protozoarios y el 7.14% (1/14) no se pudo determinar la causa de muerte por mala conservación de los tejidos del individuo. En la figura 36 se presenta de forma porcentual los diagnósticos de las causas de muerte y en la tabla 22 se detalla la frecuencia y el número de identificación.

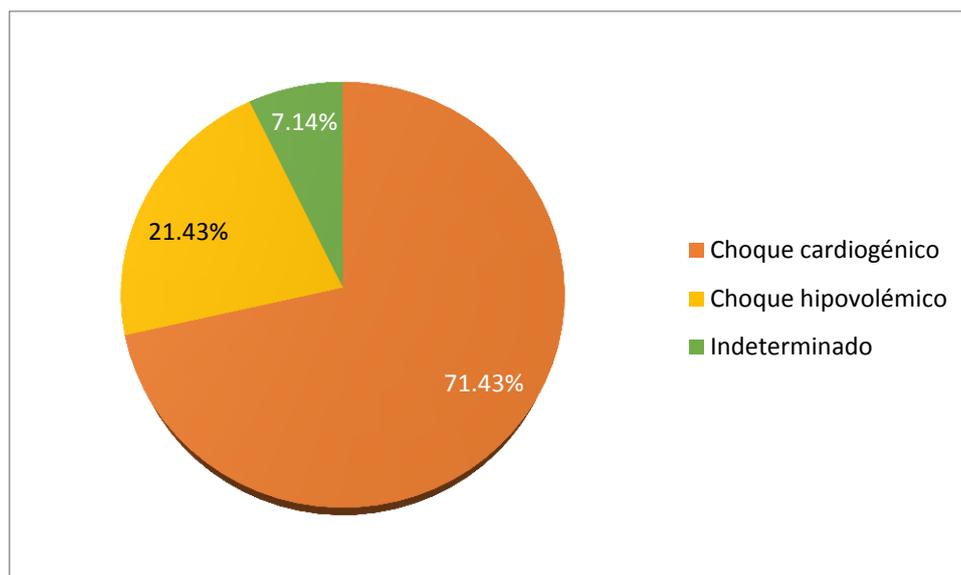


Figura 36. Porcentaje de las causas de muerte en el 2014 de los animales en cautiverio.

Tabla 22.

Frecuencia en que se presentan el choque cardiogénico, hipovolémico, indeterminado y el número de identificación de los individuos.

Causas de muerte	Frecuencia	Identificación
Choque cardiogénico	10/14	2802, 2997, 29971, 29841, 2981, 2980, 2808, 2872, 2836, 2984
Choque hipovolémico	3/14	2559, 628, 2993
Indeterminado	1/14	3342

4.4.1 Choque cardiogénico

El grupo que se compone por el 71.43% (n=10) presentaron insuficiencia cardíaca congestiva como diagnóstico principal, pero se relacionó que el 57.14% (8/10) también se presentó insuficiencia renal crónica y neumonía proliferativa crónica, por lo que, en estos individuos se produjeron fallas multiorgánicas, mientras que en el 14.28% (2/10) solamente se sumó la neumonía proliferativa crónica y se diagnosticaron como colapsos cardiorespiratorios. La presencia de la insuficiencia cardíaca congestiva desencadena múltiples alteraciones como hiperemia, hipertensión, fallas renales, pulmonares y hepáticas, estas estarían ocasionándose por una compensación fisiológica a una hipoxia ambiental que desencadenarían la muerte por choque cardiogénico.

En la figura 37 se detallan los diagnósticos que se desencadenan en choques cardiogénicos con el porcentaje correspondiente y en la tabla 23 se detalla la frecuencia y el número de identificación. Mientras que, en la tabla 24 Se encuentran los diagnósticos de los órganos afectados por grupo, individuo y frecuencia.

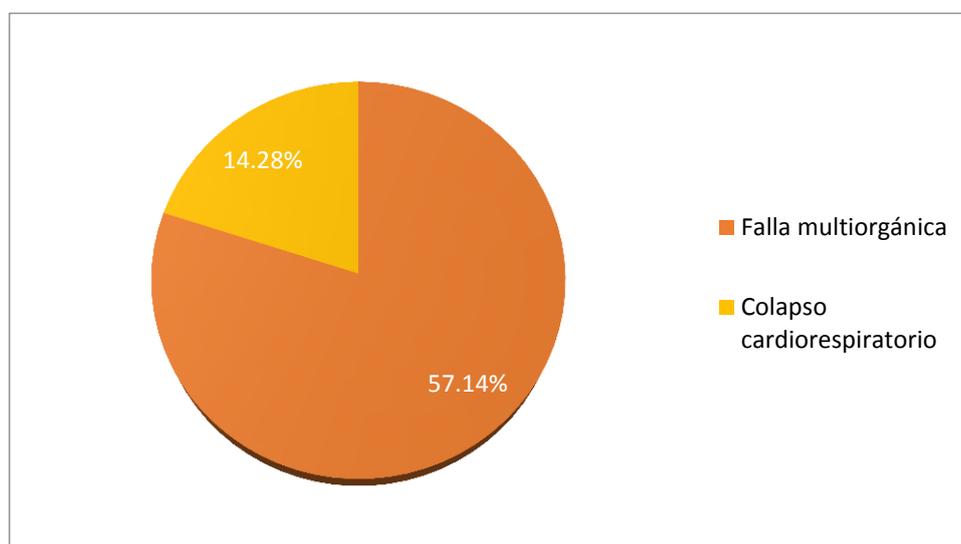


Figura 37. Principales diagnósticos de los mecanismos que desencadenan la muerte por choque cardiogénico en porcentaje.

Tabla 23.

Principales diagnósticos de los mecanismos que desencadenan la muerte por choque cardiogénico, frecuencia e identificación de los individuos afectados.

Causas de muerte	Frecuencia	Identificación
Falla multiorgánica	8/11	2802, 2997, 29971, 29841,628, 2981, 2980, 2808, 2872
Colapso cardiorespiratorio	2/11	2836, 2984

Tabla 24.

Resumen de los diagnósticos específicos de las fallas multiorgánicas y colapsos cardiorespiratorios que ocasionaron el choque cardiogénico, con su frecuencia y número de identificación

Diagnósticos principales de los mecanismos que desencadenan la muerte por choque cardiogénico		
Fallas multiorgánicas		
Diagnósticos	Frecuencia	Identificación
Insuficiencia cardíaca congestiva, insuficiencia renal crónica, neumonía y proliferativa crónica	7/10	2997, 29841, 2980, 2808, 2981, 2802, 29971
Rabdomioma, insuficiencia cardíaca congestiva e insuficiencia renal crónica	1/10	2872
Colapsos cardiorespiratorios		
Diagnósticos	Frecuencia	Identificación
Insuficiencia cardíaca congestiva, hidropericardio, congestión y edema pulmonar moderado a severo	1/10	2836
Insuficiencia cardíaca congestiva y neumonía proliferativa crónica	1/10	2984

La muerte que ocurre comúnmente en cautiverio es generalmente natural. En medicina forense, esta defunción se puede relacionar etiológicamente a una falla cardíaca, ya que estas producen una muerte súbita (Carter-monroe & Virmani, 2011).

Mediante histopatología comparada, se determinó insuficiencia cardíaca congestiva en el 85.72% (12/14) de la población y este diagnóstico estaría desencadenándose en una muerte por choque cardiogénico.

Este choque cardiogénico se relaciona con la insuficiencia cardíaca congestiva, por presentar un bajo bombeo del corazón, debilidad en la contractibilidad del miocardio, insuficiencia cardíaca diastólica, desordenes de la conducción y finalmente el desarrolló arritmias cardiacas (Zacary & McGavin, 2012).

En los *Atelopus limon*, la insuficiencia cardíaca pudo desencadenar una hipotensión; esto ocasiona que el flujo sea menor hacia los riñones, sistema gastrointestinal y órganos secundarios, para así lograr mantener el flujo correcto en cerebro y corazón (Trigo, 2011).

Se relata que en varios textos, que la hipotensión produce una eritropoyesis proveniente de la médula ósea o el bazo para el incremento de la viscosidad en la sangre, lo que ocasiona un sobre trabajo del musculo cardíaco y produciendo la insuficiencia del mismo (Trigo & Elizondo, 2004; Zacary & McGavin, 2012).

Entre los hallazgos encontrados en el tejido medular y en el bazo de los *Atelopus limon*, se presentó una disminución de la pulpa roja de moderada a severa y esta alteración puede coincidir con el mecanismo compensatorio presentado para el aumento de la viscosidad de la sangre a causa de la hipotensión por cardiopatías.

La activación de la cadena renina-angiotensina-aldosterona y la eritropoyesis logran el aumento de la volemia para compensar el retorno venoso, pero inmediatamente se presenta una hipervolemia y el corazón derecho podría

comenzar a fallar; al no poder recibir un volumen extra de sangre. Esta detención de sangre causaría congestión generalizada (Trigo, 2011). En toda la población de *Atelopus limon* que formaron parte del estudio, se observó congestión generalizada y esta alteración podría coincidir con la hipervolemia presentada como compensación de la falla cardíaca.

La sangre presente en las congestiones generalizadas severas no se pueden mantener en los vasos e inicia a extravasarse y se produce la ascitis subcutánea, hidrotórax e hidropericardio (Trigo & Elizondo, 2004). Se confirmó la presencia de este tipo de alteración en la población que murió en el 2014. Se encontraron afectados por ascitis el 85.71% (12/14) y por hidropericardio el 14.28%(2/14) de los individuos.

Si los individuos afectados no reciben tratamiento, el bombeo continuará descendiendo y la filtración glomerular será reducida al extremo, causando insuficiencia renal crónica y la volemia continua elevándose (Jubb et al., 2007; Trigo, 2011). Se podría relacionar que la presencia de la insuficiencia renal crónica en los *Atelopus limon* se debe a la presentación de la insuficiencia cardíaca y los mecanismos de compensación desarrollados para lograr el correcto retorno venoso.

El objetivo de la constante retención de líquido, es el incremento del retorno venoso al corazón derecho y así lograr incrementar el bombeo del corazón izquierdo, pero al no poder el corazón afrontar el volumen extra, finalmente se puede presentar una taquicardia ventricular que desencadena una fibrilación ventricular y en otros casos una bradiarritmia que terminan en una muerte súbita (Formiga, Manito, & Pujol, 2006; Luna et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012).

La descripción detallada de cómo se podría desencadenar la muerte por choque cardiogénico en anfibios que presentaron insuficiencia cardíaca congestiva, se realizó en base una recopilación de fisiopatología comparada, pero actualmente no hay estudios que se hayan realizado en estos ejemplares

en donde se puede afirmar si el mecanismo es igual que el presentado en mamíferos.

4.4.2 Fallas multiorgánicas y colapso cardiorespiratorio que desencadenan muerte por choque cardiogénico

A continuación, se relatará como se relaciona la insuficiencia renal crónica y la neumonía proliferativa con la insuficiencia cardíaca congestiva y como estas patologías influyen en la muerte de los individuos por falla cardiogénica.

Se relató anteriormente que la insuficiencia cardíaca congestiva produce insuficiencia renal crónica (Jubb et al., 2007; Kumar, Habbas, et al., 2013). Esto se podría confirmar, ya que en el 81.82% (9/11) se encontró insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal crónica y en algunos casos también se encontraron acompañados estos diagnósticos con presencia de neumonía proliferativa.

En la insuficiencia renal crónica se presenta un síndrome nefrótico, el cual se caracteriza por un descenso en la filtración y un aumento de la permeabilidad vascular glomerular. Además, este síndrome se encuentra acompañado por una grave proteinuria, hiperfosfatemia, azotemia, disminución de producción de eritropoyetina y edema generalizado (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012)

Relacionando las alteraciones renales anteriormente mencionadas, el edema que se presentó en los animales en cautiverio pudo ser muy marcado, debido a la proteinuria, la disminución de la eritropoyetina y la congestión cardíaca presente. El peso ganado por líquido almacenado puede producir un sobre esfuerzo del corazón y aceleraría la muerte de los animales (Jubb et al., 2007).

En la fisiopatología de la insuficiencia renal crónica, se ha descrito que la hiperfosfatemia puede desarrollar enfermedades cardiovasculares; debido a la disminución de calcio sérico, la pérdida de receptores para calcio y vitamina D. Estos son necesarios para la contractibilidad del miocardio (Block & Port,

2000; Jubb et al., 2007; Nieto, Mahecha, & Villacencio, 2005). La insuficiencia cardíaca presentada en la población que murió en el 2014, pudo acelerarse o desarrollarse más, debido a la insuficiencia renal; por el debilitamiento extremo de la contractibilidad de miocardio por falta de calcio.

Finalmente, en la etapa terminar de la insuficiencia renal, hay una sobre producción de fósforo-calcio que provocaría una acidosis metabólica, a la cual se suma la presencia de la azotemia y tóxicos urémicos. Estos factores estarían produciendo una acidosis metabólica y el deterioro de las células del miocardio y acelerando la muerte de los animales con insuficiencia cardíaca (Einhorn et al., 2009).

En los individuos que presentan congestión y edema por fallas cardíacas son propensos a presentar neumonías proliferativas (Jubb et al., 2007; Zacary & McGavin, 2012). En el 71.43% 10/14 de la población se diagnosticó neumonía proliferativa crónica, esta lesión estaba causando problemas para lograr un correcto intercambio gaseoso (Jubb et al., 2007).

La disminución de oxígeno, produce una acidemia por el aumento de la presión parcial de CO_2 (PPaCO_2) lo que ocasiona acidosis respiratoria, además una disminución del pH y la presión arterial (Pietro-de-Paula et al., 2012).

Se ha podido comprobar que una neumonía proliferativa crónica con presentación de edema produce una acidosis severa, la cual disminuye la frecuencia cardíaca y finalmente una disnea severa que termina en una muerte súbita (Peter et al., 2006; Prabhakaran et al., 2003).

La acidosis respiratoria se puede combinar con otro tipo de alteraciones, como las que se presentan en las insuficiencias renales y cardíacas; anteriormente descritas, pero en la fisiopatología de anfibios no se ha relatado este tipo de causas de muerte, por lo que, esta alteración podría estar desencadenando una falla multiorgánica o un colapso cardiorespiratorio y terminar con la muerte de los animales por un choque cardiogénico.

4.4.3 Choque Hipovolémico

En el 21.43% (n=3) la causa de muerte se determinó por un choque hipovolémico. Un individuo presentó una hipovolemia por hemorragia pulmonar 7.14% (1/3) y los dos restantes 14.28% (2/3) tuvieron una enteritis parasitaria severa ocasionada por *Entamoeba* spp., este agente hizo que se clasifique la causa de muerte en este grupo como infecciosa.

La enteritis mencionada se presentó en el intestino grueso; por lo que este órgano secundario se tomó en cuenta como diagnóstico para las causas de muerte.

En la figura 38 se presenta de forma porcentual los diagnósticos de las causas de muerte del choque hipovolémico y en la tabla 26 se detalla los diagnósticos principales, la frecuencia en que se presentan y el número de identificación.

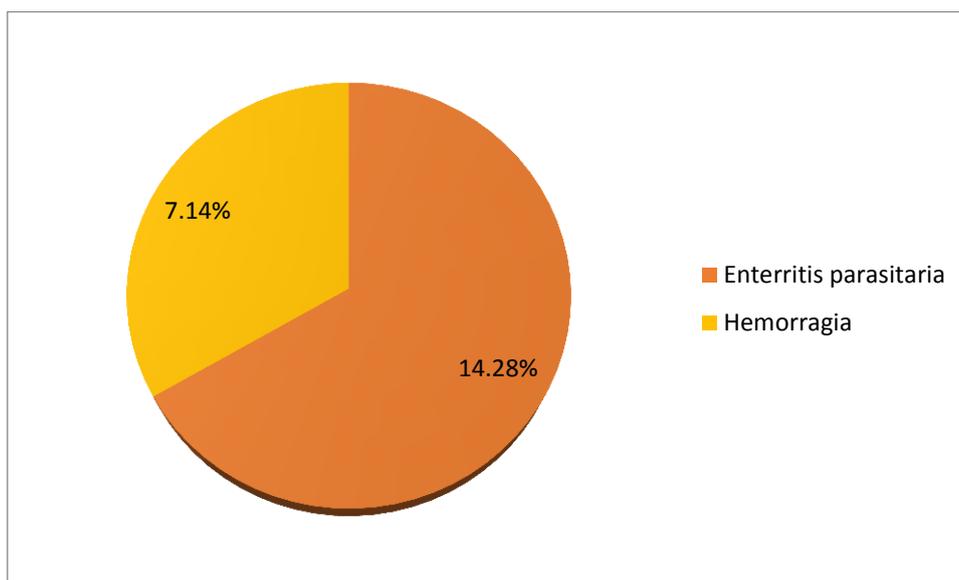


Figura 38. Principales diagnósticos porcentuales de las causas que produjeron la de muerte por choque hipovolémico.

Tabla 26.

Principales diagnósticos causantes del choque hipovolémico.

Diagnósticos relacionados a choques hipovolémicos	Frecuencia	Identificación
Hemorragia pulmonar severa y edema, insuficiencia cardíaca congestiva crónica, insuficiencia renal crónica	1/14	2559
Enteritis parasitaria severa, enfisema pulmonar, neumonía proliferativa, insuficiencia cardíaca congestiva, insuficiencia carcinoma e insuficiencia renal crónica	2/14	628, 2993

El choque hipovolémico presentado en el individuo 2559, se relaciona directamente por la hemorragia pulmonar, que causa una disminución del bombeo cardíaco debido a la pérdida de sangre (Kumar, Habbas, et al., 2013).

Mientras que, en los individuos 628 y 2993 se determinó un enteritis parasitaria severa producida por el protozooario *Entamoeba* spp., este parásito se caracteriza por producir problemas gastrointestinales a nivel de colon, se producen diarreas hemorrágicas que causan una rápida deshidratación e incluso este agente puede ocasionar alteraciones circulatorias y se relacionan con la presentación de edema y líquido en la cavidad celómica (Klaphake, 2009; Richter, Kübber-Heiss, & Weissenböck, 2008).

En *Boa constrictor* se han reportado como causas de muerte por la presencia de este parásito debido a la pérdida de sangre en las heces y la deshidratación severa de los animales. (Richter et al., 2008).

La hipovolemia producida por hemorragia o pérdida de líquido; como es el caso de los individuos 2559, 628 y 2993, se inicia con la disminución del retorno sanguíneo hacia el corazón derecho, lo que ocasiona una baja de la diástole cardíaca y de la presión arterial a 60mmHg; esto se ha presentado en reptiles (Lichtenberger, 2004). En anfibios no hay información sobre la cantidad porcentual que debería perder para que estos animales presenten una muerte por choque hipovolémico.

Durante la etapa compensatoria del choque, se detecta la disminución del bombeo cardíaco, se activa el sistema parasimpático; para contrarrestarla baja de la presión mediante una vasoconstricción de la circulación periférica y así lograr incrementar la contracción del corazón (Kumar, Habbas, et al., 2013; Lichtenberger, 2004). En este período, también se activa la cadena renina-angiotensina-aldosterona; para elevar la presión por la reabsorción de líquidos (Hill et al., 2006; Lichtenberger, 2004).

Por otro lado, en esta etapa de compensación, se secretan catecolaminas para optimizar el bombeo cardíaco y se liberan glucagón; para compensar al gasto energético. Pero si la hemorragia no se detiene, las reservas se agotan e inicia actuar el metabolismo anaerobio; mediante la producción de ácido láctico y que a su vez ocasiona una acidosis metabólica y se produce una disfunción multiorgánica (Kumar, Habbas, et al., 2013; Lichtenberger, 2004; Zacary & McGavin, 2012).

La etapa final e irreversible del choque hipovolémico, se produce cuando las respuestas neuroendocrinas no se restauran, ni se mantiene la perfusión sanguínea, en esta etapa se ha perdido el 40-60% de sangre; esto se ha descrito en aves (Markov et al., 2013; Zacary & McGavin, 2012).

Finalmente se manifiesta un colapso circulatorio; el volumen arterial es insuficiente para llegar a órganos importantes como cerebro y corazón. En el cerebro no llega suficiente sangre con oxígeno y se deprimen los centros neuronales respiratorios y simpáticos, mientras que, en corazón la frecuencia cardiaca se encuentra disminuida al extremo y se produce vasodilatación, así esto ocasiona una reducción del volumen sanguíneo y el miocardio pierde el ritmo cardíaco, produciendo una falla multisistémica y la muerte de los individuos (Jubb et al., 2007; Lichtenberger, 2004; Markov et al., 2013).

No se encontró casos similares en anfibios que presenten hemorragia severa, pero se puede relacionar que las fallas multiorgánicas que produce la hipovolemia son las encargadas de desencadenar la muerte por choque hipovolémico en estos individuos.

4.4.4 Causa de muerte indeterminada

En 7.14% de la población que corresponde al individuo 3342, la causa de muerte fue indeterminada, ya que la conservación de los órganos no de óptima en este ejemplar y solamente se pudo reconocer congestión y edema en el pulmón; esto no sería representativo para el diagnóstico.

4.5 Limitantes

Durante la realización de la necropsia se complicó el reconocimiento de los hallazgos macroscópico, ya que las muestras no eran frescas y en algunos casos la conservación no era la correcta. Este procedimiento fue realizado por el centro de conservación y los protocolos no fueron óptimos en algunos casos.

Este mismo aspecto influyó en la caracterización completa de histopatología realizada en 270 placas que impidió la observación en detalle algunos órganos y dificultó el diagnóstico final.

El reconocimiento y la caracterización de los hallazgos histopatológicos, se dificultaron en algunos órganos, debido a las variaciones histológicas que se

presentan; estas se deben a la evolución que han tenido los anfibios y las diferencias que hay entre especies. A esta problemática se sumó la poca información que hay sobre la clínica y patología especializada en anuros.

5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En los hallazgos encontrados en los órganos principales y secundarios, prevalecieron alteraciones circulatorias; como congestión, edema y hemorragia, de tipo degenerativas; como celulares e inflamatorias. Estas alteraciones se pueden relacionar principalmente con problemas circulatorios; como es la insuficiencia cardíaca congestiva severa que produce fallas multisistémicas.

Para la realización de este estudio post mortem, la información fue tomada de las historias clínicas, registros, examen físico y hallazgos histopatológicos. Sin embargo, los hallazgos macroscópicos no fueron relevantes, ya que los individuos permanecieron en formol al 10% durante un largo período de tiempo y esto podría estar alterando algunos resultados para el diagnóstico anatomopatológico.

El mayor porcentaje de las causas de muerte son debido a un choque cardiogénico, esto se relaciona con la presentación de la insuficiencia cardíaca congestiva compensatoria fisiológica a una hipoxia ambiental presentada por una de mala adaptación en el cautiverio; debido a la diferencia de altura entre el oriente y la sierra ecuatoriana. En algunos individuos la insuficiencia cardíaca estaba acompañada por otro tipo de alteración como insuficiencia renal crónica y neumonías proliferativas acompañadas de edema, lo que desencadenarían fallas multiorgánicas y colapsos cardiorespiratorios. La insuficiencia cardíaca congestiva se encontró relacionada directamente con la presentación de la insuficiencia renal crónica y neumonía proliferativa; estas patologías secundarias estarían acelerando el deterioro del corazón y la muerte de los individuos por choque cardíaco. Por lo que, estas causas de muerte son de origen no infección de tipo crónico, mientras que, en el hígado solo se pudo presenciar lesiones secundarias debido a las fallas cardíacas.

El choque hipovolémico de origen hemorrágico en pulmón se presentó de forma aguda, pero el causante podría haber sido de tipo crónico, por otro lado, las lesiones en órganos secundarios ocasionados por agentes infecciosos como la *Entamoeba* spp. se consideran severas y este agente desencadena hipovolemia por pérdidas sanguíneas y electrolitos; causando fallas multisistémicas de manera aguda y la muerte de los ejemplares. Por lo tanto se catalogó a este grupo como una causa de muerte de tipo infeccioso.

Se debe señalar que, se tomó como positiva la hipótesis planteada, ya que, las causas de muerte fueron de origen infeccioso y no infeccioso y se desencadenaron de forma aguda y crónica.

Otro tipo de agente infeccioso determinado fue el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* presente en la piel de los anfibios, este podría afectar el estado de salud de los animales, pero no se relacionaron directamente como causa de muerte, ya que su presencia no afectó a órganos vitales y la carga no fue representativa.

La caracterización de todos los órganos nos permitió conocer estado de sanitario en que se encontraba la población de *Atelopus limon* que murió en el año 2014 en cautiverio a través de una línea temporal y como estas alteraciones inciden con el bienestar animal.

5.2 Recomendaciones

Aplicar un protocolo de cuarentena de los animales antes del ingreso al centro de conservación y realizar exámenes generales para verificar el estado de salud antes del ingreso al cautiverio y evitar al mismo tiempo la entrada de patógenos externos. En el estudio se puede observar la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y el protozoario *Entamoebas* spp. que pueden ser fuente contaminante para otros individuos, produciendo problemas de salud e incluso la muerte en especies endémicas que se encuentran en conservación.

Hacer que la alimentación sea similar a la de vida libre con los requerimientos establecidos por especie e incluso por la etapa en la que se encuentren los individuos. Se recomienda continuar con presas vivas que sean apropiadas de acuerdo al tamaño de los individuos y realizar exámenes bromatológicos periódicamente del alimento, especialmente para verificar de cómo se encuentra el balance de fósforo, calcio, proteína y lípidos.

Mejorar las condiciones en cautiverio relacionadas con la luz ultravioleta o baños de sol, para evitar en lo posible deficiencia de calcitrol y así prevenir el desarrollo de enfermedades metabólicas óseas.

Establecer como protocolo obligatorio de la realización de necropsias, toma de muestras y conservación de tejidos de todos los animales que mueren en el Centro, para conocer en qué condiciones sanitarias se encuentran las poblaciones en cautiverio, así poder aportar con información clínica y patológica de anuros; la cual es escasa.

Mejorar las condiciones sanitarias del cautiverio mediante exámenes generales físicos y clínicos como pruebas de sangre, orina y aplicar calendario de desparasitaciones.

Con respecto a los terrarios, se recomienda controlar a humedad y oxigenación periódicamente, asegurarse que la purificación del agua utilizada para

abastecer a los terrarios sea mínimo del 10%, realizar enriquecimiento ambiental de los terrarios y evitar la manipulación innecesaria de los animales.

Se recomienda que los programas de conservación de animales originarios del neotrópico que viven en alturas menores a 800 msnm se realicen en localidades que no sobrepasen esta altura, para así evitar los problemas que se desencadenan por una hipoxia ambiental debido a una mala adaptación, ya que esta adaptación fisiológica compromete gravemente el bienestar y la vida de estos ejemplares endémicos ecuatorianos en cautiverio.

REFERENCIAS

- Aguilar, R. F., Hernández, S. M., Drivers, S. J., & Parpiñanan, D. (2010). *Atlas de medicina de animales exóticos* (2.^a ed.). Buenos Aires: Inter-médica.
- Antwis, R. E., & Browne, R. K. (2009). Ultraviolet radiation and Vitamin D 3 in amphibian health , behaviour , diet and conservation. *Elsevier*, 154(2), 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.06.008>
- Aresu, L., Valenza, F., Ferroglio, E., Pregel, P., Uslenghi, F., Tarducci, A., & Zanatta, R. (2007). Membranoproliferative glomerulonephritis type III in a simultaneous infection of *Leishmania infantum* and *Dirofilaria immitis* in a dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(5), 569-572. <https://doi.org/10.1177/104063870701900520>
- Bartoszewska, M., & Kamboj, M. (2010). Vitamin D, muscle function and exercise performance. *Elsevier*, 57(3), 849-861. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2010.03.008>
- Block, G., & Port, F. (2000). Re-evaluation of risks associated and hyperparathyroidism in dialysis patients. *American Journal of kidney diseases*, 35(6), 1226-1237. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2000.7493>
- Border, W., Lehman, D., Egan, J., Sass, H., Glode, J., & Wilson, C. (2010). Antitubular basement-membrane antibodies in methicillin-interstitial nephritis. *The New England journal Medicine*, 291(8), 381389. <https://doi.org/10.1056/NEJM197408222910803>
- Buergelt, C., Hines, S., Cantor, G., & Wilson, J. (2000). A retrospective study of proliferative interstitial lung disease of horses in florida. *Journal veterinary Pathology*, 23(6), 5. <https://doi.org/10.1177/030098588602300614>
- Camargo, R. (2010). *Patología del aparato respiratorio bajo en cerdos de crianza comercial, casuística del laboratorio de histología, embriología y patología veterinaria FMV.UNMSM período 2000 al 2006*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Tesis de pregrado).
- Carter-monroe, N., & Virmani, R. (2011). Tendencias actuales en la clasificación de la muerte súbita cardíaca según los datos de autopsias: una revisión de los estudios sobre la etiología de la muerte súbita cardíaca,

- 64(1), 10-12. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2010.07.002>
- Cooper, J. E., & Cooper, M. E. (2007). *Introduction to veterinary and comparative forensic medicine*. (F. Bacon, J. Steinbeck, & W. Churchill, Eds.) (1.^a ed.). Oxford: Blackwell publish.
- Demedts, I., Demoor, T., Bracke, K., Joos, G., & Brusselle, G. (2006). Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD an pulmonary emphysema. *BioMed Central*, 10(7), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-53>
- Denver, R. J., Glennemeier, K. A., & Boorse, G. C. (2002). Endocrinology of Complex Life Cycles: Amphibians. *Academic press*, 2(11), 469–513. <https://doi.org/10.1016/B978-012532104-4/50030-5>
- Einhorn, L. M., Zhan, M., Hsu, V. D., Walker, L. D., Moen, M. F., Seliger, S., & Weir, M. (2009). The frequency of hyperkalemia and its significance in chronic kidney disease. *Jama International Medicine*, 169(12), 1156-1162. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2009.132>
- Ferrie, G., Alford, V., Atkinson, J., Baitchman, E., Barber, D., Blaner, W. S., ... Valdes, E. V. (2014). Nutrition and health in amphibian husbandry. *Zoo biology*, 33(6), 483–592. <https://doi.org/10.1002/zoo.21180>
- Formiga, F., Manito, N., & Pujol, R. (2006). Insuficiencia cardíaca terminal. *Medicina clínica*, 128(7), 263-267. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(07\)72555-1](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(07)72555-1)
- Gardiner, C. H., Payer, R., & Dubey, J. P. (1988). An atlas of protozoan parasites in animal tissues. *American Society of clinical Pathologists*, 7(5), 125-1991. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(91\)90176-O](https://doi.org/10.1016/0169-4758(91)90176-O)
- Genoy-Puerto, A. (2012). *Causa de morte de animais silvestres oriundos de uma área de resgate : implicações na conservação*. Universidad de São Paulo. (Tesis de doctorado).
- Genoy-Puerto, A., Santos-Fernandes, Carolina, R., Guimarães-luiz, T., Sánchez-Sarmiento, A. M., Zacariotti, R. L., Catão-Dias, J. L., & Matushima, R. (2016). Epizootic amebiasis outbreak in wild black howler monkeys (*Alouatta caraya*) in a wildlife facility during captivity prior to translocation - Recommendations to wildlife management. *Brazilian Journal Reserch ans Animal Science*, 53(3), 260-269.

- <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2016.108441>
- Hamir, A. N., & Klein, L. (1996). Polycystic disease in a raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of wildlife diseases*, 32(4), 674-677. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-32.4.674>
- Herra, P., Sierra, E., Arbelo, M., Jaber, J. R., & Ferna, A. (2007). Rhabdomyolysis and Myoglobinuric Nephrosis (Capture Myopathy) in a Striped Dolphin. *Journal of wildlife diseases*, 43(4), 770-774. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.4.770>
- Herráez, P., Monteros, A. E. D. L., Fernández, A., Edwards, J. F., Sacchini, S., & Sierra, E. (2013). Capture myopathy in live-stranded cetaceans. *The Veterinary Journal*, 196(2), 181-188. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.021>
- Herrera, P., Caldarone, C., Forte, V., Campisi, P., Holtby, H., Chait, P., ... P, K. (2007). The current state of congenital tracheal stenosis. *Springer Journal*, 23(11), 1033-1044. <https://doi.org/10.1007/s00383-007-1945-3>
- Hickman, C., Roberts, L., Larson, A., l'Anson, H., & Eisenhour, D. (2007). *Principios integrales de zoología*. (W. Ober & C. Garritson, Eds.) (14.^a ed.). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Hill, R., Wyse, G., & Anderson, M. (2006). *Fisiología animal* (2.^a ed.). Madrid: Editorial médica panamericana.
- Hirashima, Y., Manchanayake, T., Yano, T., Kitahara, S., & Shibahara, T. (2017). Development of molecular diagnostic protocols for detecting three types of *Entamoeba* from diarrheal and asymptomatic pigs and environmental moist soils. *Springer Journal*, 116(7), 2001-2007. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5483-1>
- Hogg, J., & Senior, R. (2002). Chronic obstructive pulmonary disease c 2: Pathology and biochemistry of emphysema. *Journal BMJ*, 57(9), 830-835. <https://doi.org/10.1136/thorax.57.9.830>
- Jiménez, M., Sánchez, B., Pérez, M., García, P., López, J., Rodríguez, Á., ... Peña, L. (2008). Membranous glomerulonephritis in the Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary Immunology And Immunopathology*, 121(2008), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.07.018>

- Jubb, Kennedy, & Palmer's. (2007). *Pathology of domestic animals*. (M. Grant Maxie, Ed.) (Quinta edic). Estados unidos: Elservier.
- Kaas, J. (2017). *Evolution of nervous systems*. (G. Striedter, Ed.) (2.^a ed.). San Diego: Elsevier.
- Klaphake, E. (2009). Bacterial and parasitic diseases of amphibians. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 12(3), 597-608. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2009.06.005>
- Klaphake, E. (2010). A fresh look at metabolic bone diseases in reptiles and amphibians. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 13(3), 375-392. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2010.05.007>
- Kolly, C., Bidaut, A., & Robert, N. (2004). Cardiac rhabdomyoma in a juvenile fallow deer (*Dama dama*). *Journal of wildlife diseases*, 40(3), 603-606. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.3.603>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2013). *Robbins Basic Pathology*. (V. Kumar, A. K. Abbas, & J. C. Aster, Eds.) (9.^a ed.). Philadelphia: Elservier.
- Kumar, V., Habbas, A. K., & Aster, J. C. (2013). *Robbins basic pathology*. (J. A. Perkins, Ed.) (Novena). Philadelphia: Elservier.
- Lee, J. W., Fang, X., Dolganov, G., Fremont, R. D., Bastarache, J. A., Ware, L. B., & Matthay, M. A. (2007). Acute lung injury edema fluid decreases net Fluid transport across alveolar epithelial type II cells. *Journal of Biological Chemistry*, 282(33), 4. <https://doi.org/10.1074/jbc.M700821200>
- Lichtenberger, M. (2004). Principles of Shock and Fluid Therapy in, 13(3), 142-153. <https://doi.org/10.1053/j.saep.2004.03.004>
- Liu, N., Niu, J., Wang, D., Chen, J., & Li, X. (2016). Spinal pathomorphological changes in the breeding giant salamander juveniles. *Zoomorphology*, 135(1), 115-120. <https://doi.org/10.1007/s00435-015-0292-5>
- Luna, A. B. De, Kotzeva, A., Goldwasser, D., Subirana, M., Teresa, M., Bayés-genis, T., ... Vázquez, R. (2007). *Artemisa*, 77, 123-128.
- Markov, N. P., Percival, T. J., Morrison, J. J., Ross, J., Scott, D., Spencer, J., & Rasmussen, T. (2013). Physiologic tolerance of descending thoracic aortic balloon occlusion in a swine model of hemorrhagic shock. *US Intitute of surgical Research*, 153(6), 848-856.

- <https://doi.org/10.1016/j.surg.2012.12.001>
- Martel, A., Sluijs, A. S. Der, Blooi, M., Bert, W., Ducatelle, R., & Fisher, M. C. (2013). lethal chytridiomycosis in amphibians. *PNAS*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307356110>
- Martineau, H., Thompson, H., Taylor, D., Road, B., & Glasgow, G. (2009). Pathology of gastritis and gastric ulceration in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 41(7), 638-644. <https://doi.org/10.2746/042516409X464816>
- Masahito, P., Nishioka, M., Kondo, Y., Yamazaki, I., Nomura, K., Kato, Y., ... Kitagawa, T. (2003). Polycystic kidney and renal cell carcinoma in japanese and chinese toad hybrids. *International journal of Cancer*, 103(1), 1-4. <https://doi.org/10.1002/ijc.10774/pdf>
- Matsubayashi, M., Sasagawa, Y., Aita, T., Tokoro, M., Haritani, M., & Shibahara, T. (2016). First report of mixed *Entamoeba polecki* (ST 1) and *E. suis* infection in piglets shedding abnormal feces by histopathological and molecular surveys, 61(4), 665-670. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0093>
- Memon, W., Khanzada, T. W., Samad, A., & Kumar, B. (2011). Histopathological Spectrum of gall bladder specimens after cholecystectomy. *Pakistan journal of medical sciences*, 27(3), 553-556. <https://doi.org/10.18203/2349-2902.isj20170199>
- Ministerio del Ambiente Ecuador. Quinto Informe Nacional Para el Convenio sobre la Diversidad Biológica del Ecuador (2015). Ecuador: Ministerio del Ambiente Ecuador. Recuperado a partir de <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/06/QUINTO-INFORME-BAJA-FINAL-19.06.2015.pdf>
- Montali, R. J. (2004). Lista de causa de mortis. En J. L. Catão-Días (Ed.), *Minicurso Patologia Comparada de Animais Silvestres no VIII Congresso e XIII Encontro da Associação Brasileira de Médicos Veterinários de Animais Selvagens* (p. 5 Apostila). Jaboticabal: ABRABAS.
- Museo de Zoología QCAZ. (2016). Museo de Zoología QCAZ. Recuperado 10 de octubre de 2016, a partir de

<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/Anfibios/AnfibiosEcuador/DiversidadEndemismo.aspx>

- Mutschmann, F. (2015). Chytridiomycosis in amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 24(3), 276-282. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2015.06.013>
- Nieto, I., Mahecha, P., & Villacencio. (2005). Asociación entre hiperfosfatemia y mortalidad en los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en terapia de reemplazo de la función renal con diálisis peritoneal o hemodiálisis Association between hyperphosphatemia and mortality in patients with. *Asociación colombiana de medicina interna*, 30(14-18), 3. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/1631/163113343004.pdf>
- Ortega, E. (2016). *Facultad de ciencias de la salud caracterización de la deformación ósea por imageneología e histopatología de anfibios de la especie*. Universidad de Las Américas. (Tesis de pregrado). Recuperado a partir de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/5393>
- Peña, P. (2010). Arlequín Limón, una Joya en extinción. *Flacso Andes*, 7(10 de septiembre), 26-27. Recuperado a partir de <http://hdl.handle.net/10469/2589>
- Pessier, A. (2014). Chytridiomycosis. En *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (1.^a ed., pp. 255-270). St. Louis, Missouri: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0893-2.00022-3>
- Pessier, A., Baitchman, E., Crump, P., Wilson, B., Grif, E., & Ross, H. (2014). Causes of mortality in anuran amphibians from an ex situ survival assurance colony in panama. *Zoo biology*, 11(February), 1-11. <https://doi.org/10.1002/zoo.21166>
- Pessier, A., & Pinkerton, M. (2003). Practical gross necropsy of amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 12(2), 81-88. <https://doi.org/10.1053/saep.2003.127884>
- Pessier, & Mendelson. (2009). A manual for control of infectious diseases in amphibian survival assurance colonies and reintroduction programs. *Reserch Gate*, 1(1), 230. Recuperado a partir de <https://www.reserchgate.net/publication/279769822>
- Peter, J. V., Moran, J. L., Phillips-hughes, J., Graham, P., & Bersten, A. D.

- (2006). Effect of non-invasive positive pressure ventilation (NIPPV) on mortality in patients with acute cardiogenic pulmonary oedema: a meta-analysis. *The Lancet*, 367(9571), 1155-1163. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68506-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68506-1)
- Pietro-de-Paula, M., Franco-Hidalgo, S., Mayor-Toranzo, E., Palomino-Doza, J., & Pietro-de-Paula, F. (2012). Diálisis y trasplante. *Elsevier*, 33(1), 25-34. <https://doi.org/10.1016/j.dialis.2011.06.004>
- Pink, J., Doyle, R., Hughes, J., Tobin, E., & Bellenger, C. (2006). Laryngeal collapse in seven brachycephalic puppies. *Journal of Small Animal Practice*, 47(3), 119-180. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2006.00056.x>
- Prabhakaran, P., Ware, L. B., White, K. E., Cross, M. T., Matthay, M. A., Olman, M. A., ... Olman, M. A. (2003). Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in pulmonary edema fluid are associated with mortality in acute lung injury. *American Journal of Physiology*, 285(1), 20-28. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00312.2002>
- Puschendorf, R., Ib, R., Marca, E. La, Lips, K. R., Stefan, L., Bola, F., ... Rica, C. (2005). Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical Harlequin Frogs (Bufonidae : Atelopus). *Biotropica*, 37(2), 190-201. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00026.x>
- Quishpe, P. (2016). *Caracterización histopatológica de órganos afectados por el síndrome de edema en ranas de la especie*. Universidad de Las Américas Ecuador. (Tesis de pregrado). Recuperado a partir de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/5388/1/UDLA-EC-TMVZ-2016-18.pdf>
- Rachowicz, L. J., Roland, A., Morgan, J., Stice, M. J., Vredenburg, V., Parker, J., & Brigg, C. J. (2006). Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality. *Ecology*, 87(7), 1671–1683. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[1671:EIDAAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[1671:EIDAAP]2.0.CO;2)
- Richter, B., Kübber-Heiss, A., & Weissenböck, H. (2008). Diphtheroid colitis in a Boa constrictor infected with amphibian Entamoeba spp. *Veterinary Pathology*, 153(1-2), 164-167. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.013>
- Schmidt, P., Richter, B., Kübber-Heiss, A., & Weissenböck, H. (2008). Detection

- of cryptosporidium spp ., Entamoeba spp . and Monocercomonas spp . in the gastrointestinal tract of Snakes by in-situ hybridization. *Journal of Comparative Pathology*, 138(2-3), 63-71. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.11.001>
- Seaman, J. T. (1987). Acute myocarditis in a captive African elephant (*Loxodonta africana*). *Journal of wildlife diseases*, 23(1), 170-171. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-23.1.170>
- Specks, U. (2001). Diffuse alveolar hemorrhage syndromes. *Immunol Allergy Clin North*, 32(4), 6. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2012.08.001>
- Szeredi, L., & Szentimay, C. (2008). Proliferative and necrotic pneumonia and severe vascular lesions in pigs naturally infected. *Acta Veterinaria Hungaria*, 56(1), 101-109. <https://doi.org/10.1556/AVet.56.2008.1.10>
- Talmage, R. V., & Mobley, H. T. (2008). Calcium homeostasis: Reassessment of the actions of parathyroid hormone. *Europe PMC*, 156(1), 29. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.11.003>
- Trigo, F. J. (2011). *Patología sistémica veterinaria* (3.^a ed.). México D.F.: McGrawHill Interamericana.
- Trigo, F. J., & Elizondo, G. V. (2004). *Patología general veterinaria*. (F. J. Trigo Tavera & G. V. Elizondo, Eds.) (4.^a ed.). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Universidad de Las Américas. Plan estratégico 2013 - 2017, Pub. L. No. 1, 21 (2013). Ecuador: Universidad de Las Américas. Recuperado a partir de [http://www.udlaquito.com/pdf/acreditacionmedicina/Estado Actual y Prospectiva/PEDI-POA-PM/PlanEstrategicoUDLA13.pdf](http://www.udlaquito.com/pdf/acreditacionmedicina/Estado_Actual_y_Prospectiva/PEDI-POA-PM/PlanEstrategicoUDLA13.pdf)
- Vallejo, D., Chaves, C., Morillo, D., Astaíza, J. M., & Melo, C. (2016). Determinación histopatológica de patrones neumónicos del complejo respiratorio bovino en Pasto, Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 11(1), 88-99. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.11.1.9>
- Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2014). *Amphibians and reptiles herpetology*. (K. Gomez, Ed.) (4.^a ed.). Oklahoma: Elsevier.
- Wiechmann, A., & Wirsing-Wiechmann, C. (2003). *Color Atlas of Xenopus Laevis histology* (1.^a ed.). Oklahoma: Springer Science Business Media.

<https://doi.org/DOI 10.1007/978-1-4419-9286-4>

- Witzmann, F., Rothschild, B. M., Hampe, O., Sobral, G., Gubin, Y. M., & Asbach, P. (2014). Congenital malformations of the vertebral column in ancient amphibians. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, 43(2), 90-102. <https://doi.org/10.1111/ahe.12050>
- Woods, J. C., Choong, C. K., Yablonskiy, D. A., Bentley, J., Wong, J., Pierce, J. A., ... Hogg, J. C. (2006). Hyperpolarized ³He diffusion MRI and histology in pulmonary emphysema. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1300(6), 1293-1300. <https://doi.org/10.1002/mrm.21076>
- Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian medicine and captivity husbandry*. (K. M. Wright & B. R. Whitaker, Eds.) (1.^a ed.). Malabar, Florida: Krieger Publishing Company.
- Zacary, J. F., & McGavin, D. M. (2012). *Pathology basic of veterinary diseases* (5.^a ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Zittermann, A., Schleithoff, S. S., Tenderich, G., Stehle, P., Berthold, H. K., & Ko, R. (2003). Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 41(1), 105-112. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(02\)02624-4](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)02624-4)

ANEXOS

Anexo 1. Patente de manejo de vida silvestre 2017, no. 007-2017-fau-dpapa.
ma.

MINISTERIO DEL AMBIENTE
DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE PICHINCHA



PATENTE DE MANEJO DE VIDA SILVESTRE 2017

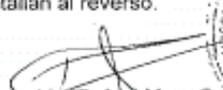


Número:
007-2017-FAU-DPAP-MA

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 misma.
 - d) Cumplir las especificaciones relacionadas con la patente, que se detallan al reverso.


Lic. Rafael Mera Cuvil
DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE PICHINCHA

DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE PICHINCHA – Encargado.

Dirección Provincial del Ambiente Pichincha. Av. Amazonas N24 - 106 y calle Luis Cordero,
Edificio CONTEMPO, 3° piso. Quito - Ecuador
Teléfono: (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



Anexo 2. Informe para la recolección de datos durante la realización de las necropsias.

INFORME DE NECROPSIA

DATOS GENERALES

Persona que realiza la necropsia:

Especie:

sexo:

Identificación del animal:

Fecha de realización de la necropsia:

Fecha de muerte del animal:

Código de identificación de la muestra:

Lugar de hallazgo:

ANTECEDENTES

--

Estados de descomposición: (1) (2) (3) (4)

- Longitud rostro-cloaca:
- Circunferencia torácica (por detrás de las axilas):
- Otras medidas:

ESTADO GENERAL: (Estado nutricional, físico, malformaciones).

--

CARACTERÍSTICAS PIEL

--

SISTEMA MUSCULO-ESQUELETICO

Hueso:

Articulaciones:

Músculo:

--

CAVIDADES CELÓMICA

Huevos:

Líquido:

Otros:

--

SISTEMA HEMOLINFÁTICO

Bazo:

--

SISTEMA RESPIRATORIO

Cavidad nasal:
Tráquea:
Pulmones:

SISTEMA CARDIOVASCULAR

Corazón:
Pericardio:
Vasos grandes:

SISTEMA DIGESTIVO

Boca:
Lengua:
Esófago:
Estómago:
Duodeno y páncreas
Intestino delgado:
Intestino grueso:
Hígado:
Vesícula biliar:

SISTEMA URINARIO

Riñón derecho:
Riñón izquierdo:
Vejiga:

SISTEMA REPRODUCTIVO

Huevos:
Testículos:

Anexo 3. Tabla orinal de las clasificaciones de las causas de muerte según genoy-puerto y montali.

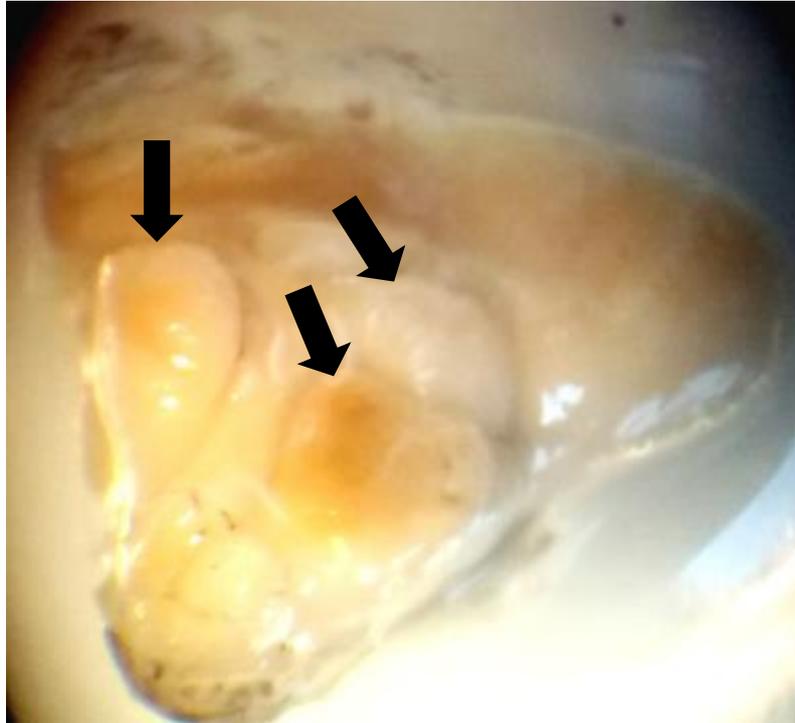
Classificação	Causa de Morte	Mecanismo de Morte	Proceso fisiopatológico ou Comentário	Forma de Ocorrência
	<ul style="list-style-type: none"> • Acidentes <ul style="list-style-type: none"> ○ Trauma • Craniano • Tóraco-abdominal • Dorso-caudal • Comprometimento Sistema Músculo Esquelético • Politraumatismo <ul style="list-style-type: none"> ○ Choque elétrico ○ Queimadura ○ Atogamento ○ Desidratação ○ Atropelamiento ○ Injúria intencional ou (homen) • Mudanças na temperatura <ul style="list-style-type: none"> ○ Hipotermia ○ Hipertermia • Procedimentos <ul style="list-style-type: none"> ○ Captura ○ Translocação ○ Transporte ○ Atendimento clínico veterinário ○ Iatrogénica • Agente Biológico <ul style="list-style-type: none"> ○ Predação ○ Ataque contactante • Distúrbios em Sistemas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Em sistema digestório ○ Em sistema respiratório ○ Nutricional 	<ul style="list-style-type: none"> • Choque Cardíaco • Choque Neurogénico • Choque Endotóxico • Choque Séptico (Exotóxico) • Choque Hipovolémico • Choque Hemorrágico • Síndrome Caquexia • Colapso Respiratório • Colapso Cardiorrespiratório • Choque Hipovolémico • Síndrome Caquexia 	<ul style="list-style-type: none"> • Choque: Refere-se a uma crise circulatória que abrange um desequilíbrio entre a capacidade intravascular e o volume sanguíneo que resulta numa inadequada perfusão. Seu mecanismo depende do agente: <ul style="list-style-type: none"> ○ Falha cardíaca por diversas causas (Cardíaco) ○ Não cardiológico (Hipovolémico, hemorrágico) ○ Endotoxinas bacterianas (Endotóxico) ○ Infecções extensas ou disseminadas pelo organismo (Exotóxico) ○ Replicação viral intensa em células endoteliais ○ Nervo estimulação inócu: vasodilatação periférica que leva à perda de volume sanguíneo circulante efetivo (Neurogénico). • Colapso Respiratório: Falência fisiológica respiratória aguda ou crónica. • Colapso Cardiorrespiratório: Falência a nível circulatório que atinge o sistema respiratório. • Caquexia: Associada a parasitose intensa e anemias específicas • Falha Multi Orgânica 	<ul style="list-style-type: none"> • Acidental – Natural – Induzida <ul style="list-style-type: none"> ○ CETAS ○ Monitoramento ○ Supressão ○ Captura ○ Antropogénica
Não Infecioso				

Tabla obtenida de: (Genoy-Puerto, 2012; Montali, 2004)

Classificação	Causa de Morte	Mecanismo de Morte	Processo fisiopatológico ou Comentário	Forma de Ocorrência
Infecioso	<ul style="list-style-type: none"> Agentes acelulares: Vírus, príons Procariontes: Bactérias Eucariontes: Fungos, protozoários, algas Parasitas metazoários: Cestóides, nematóides, trematódeos, insetos Mista: Combinação de dois ou mais agentes 			
Suspeita de infeccioso	Achados macro e microscópicos, e históricos clínico evidenciam processo infeccioso "Não foi possível isolar agente infeccioso. Presume-se algum agente infeccioso	Presume-se processo infeccioso que originou similares mecanismos que um processo infeccioso	<p>Podem-se presumir que algum dos processos acima referidos interveio na causa de morte</p> <ul style="list-style-type: none"> Lesão osteoarticular grave Lesões cutâneas ou em tecidos moles graves Lesões isquêmicas em membros Mista "Combinação das três anteriores Outros "Diagnóstico raiva, estresse severo após captura, colapso cardiorespiratório na captura...etc 	
Eutanásia	Overdose anestésica	Colapso Cardiorespiratório		Induzida: Procedimento aplicado no CETAS ou em campo
Indeterminada	Indeterminada "Lesões macroscópicas e microscópicas não foram suficientes para caracterizar o agente envolvido.	Indeterminado	Indeterminado	Indeterminada <ul style="list-style-type: none"> Autólise e putrefação do cadáver Ausência de parte do corpo Ausência de tecido para ser amostrado (ossada, crânio, carapaça etc...)

Tabla obtenida de: (Genoy-Puerto, 2012; Montali, 2004)

Anexo 4. Hallazgo macroscópico del corazón que corresponde a rabdomioma multifocal. Se observan múltiples masas de superficies lisas, incrustadas y circunscritas en el miocardio (flechas negras). Fotografía de corazón. *Atelopus limon*, individuo 2872. Fuente: alvear-santos, 2017.



Anexo 5. Hallazgo macroscópico del riñón que corresponde a carcinoma renal. Se aprecian masas esféricas y ovoides y se localizan en los extremos del riñón; su coloración es amarillo pálido (flechas negras). Fotografía de riñones. *Atelopus limon*, individuo 628. Fuente: alvear-santos, 2017.



Anexo 6. Muestras. Los animales que murieron el 2014 se encontraron embalsados en recipientes de vidrio y en la tapa se encontraron los datos de la especie, número de terrario y fecha de muerte. Fuente: alvear-santos, 2016



Anexo 7. Pesaje de los animales. Se colocan los animales en embaces de plástico para el pesaje en la balanza. Fuente: alvear-santos, 2016.



Anexo 8. Toma de parámetros biométricos. Se utilizó una cinta métrica para tomar los valores de la distancia rostro-cloaca, celómica y circunferencia torácica. Fuente: alvear-santos, 2016.



Anexo 9. Necropsia. Durante la necropsia se utilizó el estereoscopio, caja pedri, equipo de disección y un soporte para el tomar fotos para el registro de las mismas. Fuente: genoy-puerto, 2017.



Anexo 10. Lectura de las láminas histológicas. Para la lectura de las placas se utilizó el microscopio de luz y una computadora para el almacenamiento de información en la base de datos. Universidad de las Américas, 2017.



