



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DETERMINACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE POSIBLES CAUSAS  
DE MUERTE ENTRE NOVIEMBRE DEL 2016 A ENERO DEL 2018 EN  
ANFIBIOS DEL CENTRO DE CONSERVACIÓN “BALSA DE LOS  
SAPOS” ”

AUTOR

María Cristina Galante Mulki

AÑO

2018



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DETERMINACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE POSIBLES CAUSAS DE  
MUERTE ENTRE NOVIEMBRE DEL 2016 A ENERO DEL 2018 EN ANFIBIOS  
DEL CENTRO DE CONSERVACIÓN “BALSA DE LOS SAPOS””

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

Profesor guía

Elmer Alexander Genoy-Puerto

Autora

María Cristina Galante Mulki

Año

2018

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, “Determinación anatomopatológica de posibles causas de muerte entre noviembre del 2016 a enero del 2018 en anfibios del centro de conservación “Balsa de los Sapos”” a través de reuniones periódicas con la estudiante, María Cristina Galante Mulki, en el semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

---

Elmer Alexander Genoy-Puerto

Médico Veterinario

C.I.: 1757589278

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

Declaro haber revisado este trabajo, “Determinación anatomopatológica de posibles causas de muerte entre noviembre del 2016 a enero del 2018 en anfibios del centro de conservación “Balsa de los Sapos””, de María Cristina Galante Mulki, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

---

Carlos Alfonso Paz Zurita

Médico Veterinario

C.I.: 1702531748

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

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

---

María Cristina Galante Mulki

C.I: 1716642754

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional; al centro de conservación Balsa de los Sapos y a Flor Rosero por su colaboración en la recolección de la muestra; al laboratorio LABCYQ por su invaluable ayuda; a Ana Santamaría por su amabilidad y excelente procesamiento de las placas histopatológicas; a Gina Cuenca e Isabel Alpa por su paciencia y sus consejos; a Daysi Iza y Yessenia Alvear por su amistad y a la Clínica Veterinaria Los Sauces por su gran contribución a mi formación profesional.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi mamá María Mulki, a mi papá José Galante y a mi hermana María José Galante quienes jamás se apartaron de mi lado

## RESUMEN

La pérdida de la biodiversidad por influencia antrópica es un problema creciente que ha mermado las poblaciones de anfibios ecuatorianos. Es por esta razón que este estudio tuvo el objetivo de determinar, identificar y clasificar las lesiones macro y microscópicas presentes en sapos adultos fallecidos del 29/11/2016 al 31/01/2018 en la institución “Balsa de Sapos” para establecer las posibles causas de muerte y su frecuencia. Con este propósito, se recolectaron animales recién fallecidos, se fijaron en formol al 10%, se les realizó una necropsia y se tomaron muestras para la elaboración de placas histopatológicas que fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina y examinadas por microscopía óptica. Las alteraciones observadas fueron comparadas con bibliografía y analizadas por estadística descriptiva. Las principales lesiones fueron congestión (16/20=80%); melanomacrófagos activos (14/20=70%); endocarditis valvular (10/20=50%), hidropericardio, riñón terminal, lipidosis hepática, hepatitis, hemorragia, micosis subcutánea (2/20=10%); miocarditis intersticial, bronquiolitis crónica (11/20=55%); pericarditis constrictiva, hemorragia valvular, carcinoma renal, tubulorrexis, colangitis preneoplásica, interfase peri-portal, cirrosis hepática, rabiomólisis, degeneración hidrópica hepática, miopatía por esfuerzo, espongiocutánea, microabscesos de Munro, carcinoma de úlcera por presión crónica, atrofia serosa de la grasa, enteritis (1/20=5%); hipertrofia cardíaca excéntrica, proteinuria, neumonía exudativa, cambio micro y macrovesicular hepático (8/20=40%); fibrosis valvular, glomerulonefritis membranoproliferativa, cálculos biliares, miopatía degenerativa mono y polifásica (5/20=25%); lambertosis, nefritis tubulointersticial, colangitis neutrofílica, gastritis (6/20=30%); neumonía proliferativa (13/20=65%); glomerulonefritis proliferativa (12/20=60%); glomeruloesclerosis, hidrocolecisto, osteodistrofias, erosión gástrica (4/20=20%); edema (17/20=85%); dermatosis crónica (9/20=45%) y dermatosis inflamatoria (3/20=15%). Estos hallazgos indicaron que los anuros murieron por causas posiblemente infecciosas (10/20=50%), infecciosas (4/20=20%) y no infecciosas (6/20=30%). En conclusión, la mayoría de las lesiones son crónicas y asociadas a enfermedades infecciosas o alteraciones cardiovasculares consecuentes al estrés o a la hipoxia ambiental.

## ABSTRACT

The loss of biodiversity due to anthropic influence is a growing problem that has diminished the populations of Ecuadorian amphibians. It is for this reason that this study aimed to determine, identify and classify the macro and microscopic lesions present in deceased adult toads that died from 29/11/2016 to 01/31/2018 in the institution "Balsa de Sapos" to establish the possible causes of death and their frequency. For this purpose, recently deceased animals were collected, fixed in 10% formalin and examined by necropsy and histopathology. The histopathological plates were stained with Hematoxylin-Eosin and examined by optical microscopy. The observed alterations were compared with bibliography and analyzed by descriptive statistics. The main observed lesions were congestion (16/20=80%); active melanomacrophages (14/20=70%); valvular endocarditis (10/20=50%), hydropericardium, end-stage kidney, hepatic lipidosis, hepatitis, hemorrhage, subcutaneous mycosis (2/20=10%); interstitial myocarditis, chronic bronchiolitis (11/20=55%); constrictive pericarditis, valvular hemorrhage, renal carcinoma, tubulorhexis, preneoplastic cholangitis, peri-portal interface, liver cirrhosis, rhabdomyolysis, hepatic hydropic degeneration, stress myopathy, cutaneous spongiosis, Munro's microabscesses, chronic pressure ulcer carcinoma, serous atrophy of the fat, enteritis (1/20=5%); eccentric cardiac hypertrophy, proteinuria, exudative pneumonia, micro and macrovesicular hepatic change (8/20=40%); valvular fibrosis, membranoproliferative glomerulonephritis, gallstones, mono and polyphasic degenerative myopathy (5/20=25%); lambertosis, tubulointerstitial nephritis, neutrophilic cholangitis, gastritis (6/20=30%); proliferative pneumonia (13/20=65%); proliferative glomerulonephritis (12/20=60%); glomerulosclerosis, gallbladder hydrops, osteodystrophies, gastric erosion (4/20=20%); edema (17/20=85%); chronic dermatosis (9/20=45%) and inflammatory dermatosis (3/20=15%). These findings indicated that the anurans died due to potential infectious diseases (10/20 = 50%), infectious (4/20 = 20%) and non-infectious causes (6/20 = 30%). In conclusion, most of the lesions are chronic and associated with infectious diseases or cardiovascular alterations due to stress or environmental hypoxia.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivos .....	3
1.2.1 Objetivo general .....	3
1.2.2 Objetivos específicos.....	3
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	5
2.1. Características anatómo-fisiológicas de los anuros .....	5
2.2. Conservación de anfibios .....	11
2.3. Principales causas de muerte en anuros .....	12
2.3.1. Causas infecciosas.....	12
2.3.2. Causas no infecciosas .....	17
3. CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	19
3.1. Diseño del estudio.....	19
3.2. Población de estudio.....	19
3.3. Área de estudio .....	20
3.4. Necropsias .....	21
3.5. Tinción .....	24
3.6. Análisis histopatológico.....	25
3.7. Análisis e interpretación de resultados.....	25
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	29
4.1. Resultados .....	29
4.1.1. Evaluación previa a la necropsia.....	31

4.1.2.	Posibles causas de muerte .....	32
4.2.	Discusión.....	59
4.2.1.	Características de la población estudiada .....	59
4.2.2.	Medidas morfométricas .....	61
4.2.3.	Hallazgos patológicos encontrados .....	63
4.2.4.	Posible mecanismo de muerte de los individuos <i>E. tricolor</i> ..	82
4.2.5.	Posible mecanismo de muerte de los individuos <i>H. nexipus</i> .	86
4.2.6.	Posible mecanismo de muerte de los individuos <i>E. callistomma</i> .....	88
4.2.7.	Posible mecanismo de muerte de los individuos <i>A. limosus</i> ..	90
4.2.8.	Posible mecanismo de muerte del individuo <i>Gastrotheca</i> <i>spp.</i> .....	92
4.2.9.	Posible mecanismo de muerte del individuo <i>C. mariaelenae</i> .	94
4.2.10.	Posible mecanismo de muerte del individuo <i>P. laticlavus</i> .....	94
5.	<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	98
5.1.	Conclusiones.....	98
5.2.	Recomendaciones .....	98
	<b>REFERENCIAS .....</b>	99
	<b>ANEXOS .....</b>	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Sistema digestivo .....	7
<i>Figura 2.</i> Tipos de respiración en anfibios .....	8
<i>Figura 3.</i> Glándulas y hormonas en anuros.....	10
<i>Figura 4.</i> Estrategias básicas de un plan de conservación .....	11
<i>Figura 5.</i> Evaluación externa de un individuo <i>E. tricolor</i> .....	22
<i>Figura 6.</i> Colocación del individuo en decúbito dorsal.....	22
<i>Figura 7.</i> Incisión inicial .....	23
<i>Figura 8.</i> Corte de la capa muscular .....	23
<i>Figura 9.</i> Procedimiento de toma de muestras para histopatología .....	24
<i>Figura 10.</i> Edades de los individuos estudiados.....	29
<i>Figura 11.</i> Porcentaje de machos y hembras .....	30
<i>Figura 12.</i> Lugar de nacimiento de los individuos analizados.....	30
<i>Figura 13.</i> Especies evaluadas .....	31
<i>Figura 14.</i> Endocarditis valvular. ....	50
<i>Figura 15.</i> Hemorragia valvular. ....	50
<i>Figura 16.</i> Neumonía exudativa. ....	51
<i>Figura 17.</i> Glomerulonefritis membranoproliferativa. ....	51
<i>Figura 18.</i> Carcinoma renal.....	52
<i>Figura 19.</i> Hidropesía de la vesícula biliar.....	52
<i>Figura 20.</i> Nefritis tubulointersticial crónica. ....	53
<i>Figura 21.</i> Interfase peri-portal. ....	53
<i>Figura 22.</i> Miopatía por esfuerzo por estrés crónico. ....	54
<i>Figura 23.</i> Edema generalizado.. ....	54
<i>Figura 24.</i> Dermatitis inflamatoria.....	55
<i>Figura 25.</i> Micosis subcutánea.....	55
<i>Figura 26.</i> Carcinoma de úlcera por presión crónica. ....	56
<i>Figura 27.</i> Atrofia serosa de la grasa. ....	56
<i>Figura 28.</i> Causas de muerte .....	57
<i>Figura 29.</i> Mecanismos de muerte en la población estudiada .....	57
<i>Figura 30.</i> Lesiones encontradas .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i> Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a bacterias .....	13
<i>Tabla 2.</i> Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a hongos .....	15
<i>Tabla 3.</i> Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a parásitos y virus .....	16
<i>Tabla 4.</i> Principales causas no infecciosas de muerte en anuros .....	17
<i>Tabla 5.</i> Individuos estudiados .....	20
<i>Tabla 6.</i> Variables evaluadas .....	26
<i>Tabla 7.</i> Clasificación de posibles causas de muerte .....	26
<i>Tabla 8.</i> Medidas morfométricas .....	32
<i>Tabla 9.</i> Causas de muerte de la población estudiada .....	33
<i>Tabla 10.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado .....	38
<i>Tabla 11.</i> Lesiones microscópicas características de cada hallazgo observado cerca de alteraciones tisulares .....	39
<i>Tabla 12.</i> Lesiones características de los hallazgos observados en el interior de células, en tejido necrótico y neoplasia .....	39
<i>Tabla 13.</i> Lesiones macro y microscópicas características de cada hallazgo observado en corazón .....	40
<i>Tabla 14.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en pulmones .....	41
<i>Tabla 15.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en riñones .....	42
<i>Tabla 16.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en vesícula biliar .....	43
<i>Tabla 17.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en hueso .....	44
<i>Tabla 18.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en hígado .....	45
<i>Tabla 19.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en vasos sanguíneos y tejidos aledaños .....	46
<i>Tabla 20.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en músculo ..	46
<i>Tabla 21.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en	

tejidos afectados .....	47
<i>Tabla 22.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en estómago	47
<i>Tabla 23.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en piel .....	48
<i>Tabla 24.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en médula ósea .....	49
<i>Tabla 25.</i> Lesiones características de cada hallazgo observado en intestino ..	49
<i>Tabla 26.</i> Valores de referencia de longitud rostro-cloacal .....	62
<i>Tabla 27.</i> Alteraciones valvulares observadas en la población estudiada .....	63
<i>Tabla 28.</i> Alteraciones del pericardio observadas en la población estudiada ..	65
<i>Tabla 29.</i> Alteraciones del miocardio observadas en la población estudiada ..	66
<i>Tabla 30.</i> Tipos de glomerulonefritis observados en la población analizada ...	70
<i>Tabla 31.</i> Principales enfermedades metabólicas óseas .....	72
<i>Tabla 32.</i> Tipos de miopatías degenerativas .....	77
<i>Tabla 33.</i> Características de la gastritis y la erosión gástrica .....	79
<i>Tabla 34.</i> Posibles agentes causales de la infección observada .....	88

## 1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Ecuador es uno de los 17 países calificados como mega diversos a nivel mundial. Sin embargo, las necesidades económicas de la población y la contaminación han ocasionado una pérdida de recursos naturales. De acuerdo con el 5° Informe Nacional Para el Convenio Sobre la Biodiversidad y el Plan Nacional del Buen Vivir (PNBV), entre los principales factores que afectan a la biodiversidad en el Ecuador se encuentran (MAE, 2015; SENPLADES, 2013):

1. Los derrames de petróleo: Se sospecha que en los cauces de ríos, suelos y pantanos se han derramado aproximadamente 5 millones de barriles.
2. La contaminación de los ríos con aguas servidas de centros poblados: En el Ecuador únicamente el 54% de la población que habita en áreas rurales y el 84% de la población que habita en áreas urbanas tiene acceso a un servicio eficiente de recolección de residuos.
3. La pérdida de bosques naturales.
4. El cambio climático.

Todos los factores anteriormente nombrados afectan no únicamente al ecosistema y atentan contra los derechos de la naturaleza establecidos en la constitución, sino que también afectan a las poblaciones humanas y animales que habitan en ellos al no ser respetado el derecho que tienen de vivir en un ambiente sano establecido en el PNBV. Es por este motivo, que la conservación del medioambiente a nivel nacional, es un esfuerzo necesario que puede ser facilitado mediante el desarrollo de estrategias de conservación y uso racional de recursos naturales y genéticos ("Constitución del Ecuador," 2008; SENPLADES, 2013).

El estudio de los animales que habitan dentro del país es fundamental para la restauración del medioambiente, en especial de los anfibios, quienes no únicamente conforman un grupo con gran variedad de especies a nivel nacional, sino que también son indicadores ecológicos al permitir detectar cambios

ambientales no evidentes debido a los siguientes motivos (Collins, Crump, & Lovejoy III, 2009; MAE, 2015) :

- Carecen de exoesqueleto y estructuras firmes que los recubran.
- Son poco resistentes a altos niveles de radiación ultravioleta.
- Sus huevos al estar recubiertos simplemente por una sustancia gelatinosa permiten que sus embriones estén en mayor contacto con el ambiente.
- Su piel es delgada y permite el paso de agua y gases a través de ella volviéndolos más susceptibles a la intoxicación y a la desecación.

Actualmente, en el Ecuador existen 540 especies de anfibios, de las cuales 216 (40%) son endémicas y 156 especies (29%) se encuentran en peligro de extinción. De este último grupo, 42 son consideradas vulnerables, 68 se encuentran en peligro y 46 en peligro crítico (MAE, 2015).

Para la conservación de estos recursos naturales vulnerables se están aplicando múltiples estrategias, entre ellas la iniciativa “Balsa de los sapos”, creada por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), la cual ha instaurado este centro de conservación para mantener e investigar anfibios de múltiples ecosistemas nacionales (PUCE, 2005).

La iniciativa anteriormente mencionada es de gran relevancia para la conservación de distintas especies de anfibios a nivel nacional, por lo que es necesario desarrollar investigaciones que permitan conocer a profundidad el perfil sanitario de los animales dentro del centro, las principales alteraciones y patologías que los afectan y sus principales causas de mortalidad, siendo esencial la aplicación de conocimientos médico veterinarios (PUCE, 2005).

Con este propósito, la Universidad de Las Américas (UDLA) creó el proyecto Patología comparada de procesos no infecciosos e infecciosos de anfibios ecuatorianos en cautiverio vinculado con la PUCE, para que dentro de este proyecto los estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia lleven a cabo tesis

de pregrado que les permitan aplicar los conocimientos adquiridos durante su carrera y contribuir a la conservación de la biodiversidad nacional. Adicionalmente, esto permitirá a la universidad cumplir con el objetivo número 1 del plan estratégico 2015-2019 el cual es “Asegurar la calidad académica como pilar fundamental de la educación superior” (UDLA, 2015).

## **1.1 Hipótesis**

Los resultados obtenidos en el transcurso de este trabajo permitieron resolver las siguientes hipótesis:

1. Hipótesis alterna ( $H_a$ )= Los hallazgos anatomopatológicos observados en los animales muertos entre noviembre del 2016 a enero del 2018 en la “Balsa de los sapos” pueden ser correlacionados con un tipo de causa de muerte de acuerdo con la clasificación dada por Montali en el 2004.
2. Hipótesis nula ( $H_0$ )= Los hallazgos anatomopatológicos observados en los animales muertos entre noviembre del 2016 a enero del 2018 en la “Balsa de los sapos” no pueden ser correlacionados con un tipo de causa de muerte de acuerdo con la clasificación dada por Montali en el 2004.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar las lesiones macroscópicas y microscópicas presentes en los anfibios fallecidos en el periodo del 29/11/2016 hasta el mes de enero del 2018 del centro de conservación “Balsa de Sapos”.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

1. Determinar los hallazgos anatomopatológicos presentes en los anfibios que murieron en el centro de conservación “Balsa de Sapos”.

2. Clasificar las lesiones observadas en los anfibios fallecidos en el centro de conservación “Balsa de Sapos” mediante histopatología.
3. Establecer las causas de la muerte de los anfibios del centro de conservación “Balsa de Sapos” determinando los factores predisponentes y desencadenantes de las patologías encontradas.

## 2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Características anatomo-fisiológicas de los anuros

Los anuros son individuos que durante su vida sufren cambios anatómicos drásticos. Inicialmente estos individuos se encontrarán en estadios larvarios, en los cuales estos animales tienen un cuerpo de forma redonda a ovalada con una cola comprimida. Después, se transforman en un individuo adulto sin branquias con cuatro miembros y amplia capacidad de salto al ser los miembros posteriores mucho más largos, musculosos y con un dedo más que los anteriores, los cuales únicamente poseen cuatro dedos. Las principales características anatomo-fisiológicas de un anuro adulto son (Cecala, Davenport, Ennen, & Fields, 2017; Chai, 2015; Wright & Whitaker, 2001):

#### 2.1.1. Sistema musculo esquelético

En el anuro adulto el sistema musculo esquelético se encuentra compuesto por cráneo, columna vertebral, miembros anteriores, miembros posteriores y tronco (Wright & Whitaker, 2001).

**2.1.1.1. Cráneo:** El cráneo de los anuros es sencillo y soporta dos grandes órbitas sin separación ósea entre la orofaringe y el globo ocular. Los principales huesos craneales de rostral hacia caudal son el hueso maxilar, el pre maxilar, el hueso nasal, el frontoparietal, el escamoso y el pterigoideo. En algunos géneros de anfibios puede encontrarse al hueso hioides, el cual se encuentra adaptado al movimiento de eyección de la lengua que permite la captura de alimento.

**2.1.1.2. Columna vertebral:** La columna vertebral se encuentra compuesta por tres regiones principales (presacral, sacral y postsacral). Estos individuos no poseen hueso sacro, sin embargo, poseen una pelvis altamente modificada compuesta por los huesos coxis, ilion e isquion.

**2.1.1.3. Miembros anteriores:** Estos están compuestos de metacarpos, cuatro carpos (encontrándose los tres últimos carpos fusionados), el hueso carpo radial,

carpo central, carpo intermedio y carpo ulnar. Articulado a los huesos nombrados anteriormente se encuentra el hueso radioulnar, en el miembro anterior, seguido por el hueso húmero.

**2.1.1.4. Miembros posteriores:** Estos están compuestos de metatarsos y tres tarsos, los cuales se articulan a los huesos astrágalo y calcáneo, seguidos por el hueso tibiofibular y posteriormente por el fémur.

**2.1.1.5. Tronco:** La base del tronco es la columna vertebral, a la que se encuentran unidos los huesos supra escapulares hacia dorsal y las costillas hacia lateral. En algunas especies de anuros también es posible encontrar una faja cartilaginosa en la porción ventral del tronco unida a las primeras costillas cubriendo el corazón.

## **2.1.2. Sistema nervioso**

El sistema nervioso se encuentra compuesto por (Zachary, 2017):

**2.1.2.1. Nervios craneales:** son doce. Olfatorio (I), óptico (II), oculomotor (III), troclear (IV), trigémino (V), abducens (VI), facial (VII), auditivo (VIII), glossofaríngeo (IX), vago (X), accesorio (XI) e hipogloso (XII).

**2.1.2.2. Nervios periféricos:** Estos se encuentran unidos a ramas de los nervios craneales.

**2.1.2.3. Sistema nervioso central:** Compuesto de cerebro y médula espinal.

## **2.1.3. Sistema tegumentario**

En la mayoría de los anuros el integumento se encuentra conformado por piel ligeramente adherida al tejido subcutáneo dando lugar a un espacio que puede llenarse de fluido al existir necesidad de reservar agua en todo el cuerpo a excepción del cráneo de determinadas especies, en los cuales la piel se encuentra co-osificada a los huesos (Wright & Whitaker, 2001).

### 2.1.4. Sistema digestivo

El sistema gastrointestinal está adaptado a una dieta principalmente carnívora y es bastante simple. Dentro del mismo, el proceso digestivo ocurre de la manera presentada en la figura a continuación (Wright & Whitaker, 2001):

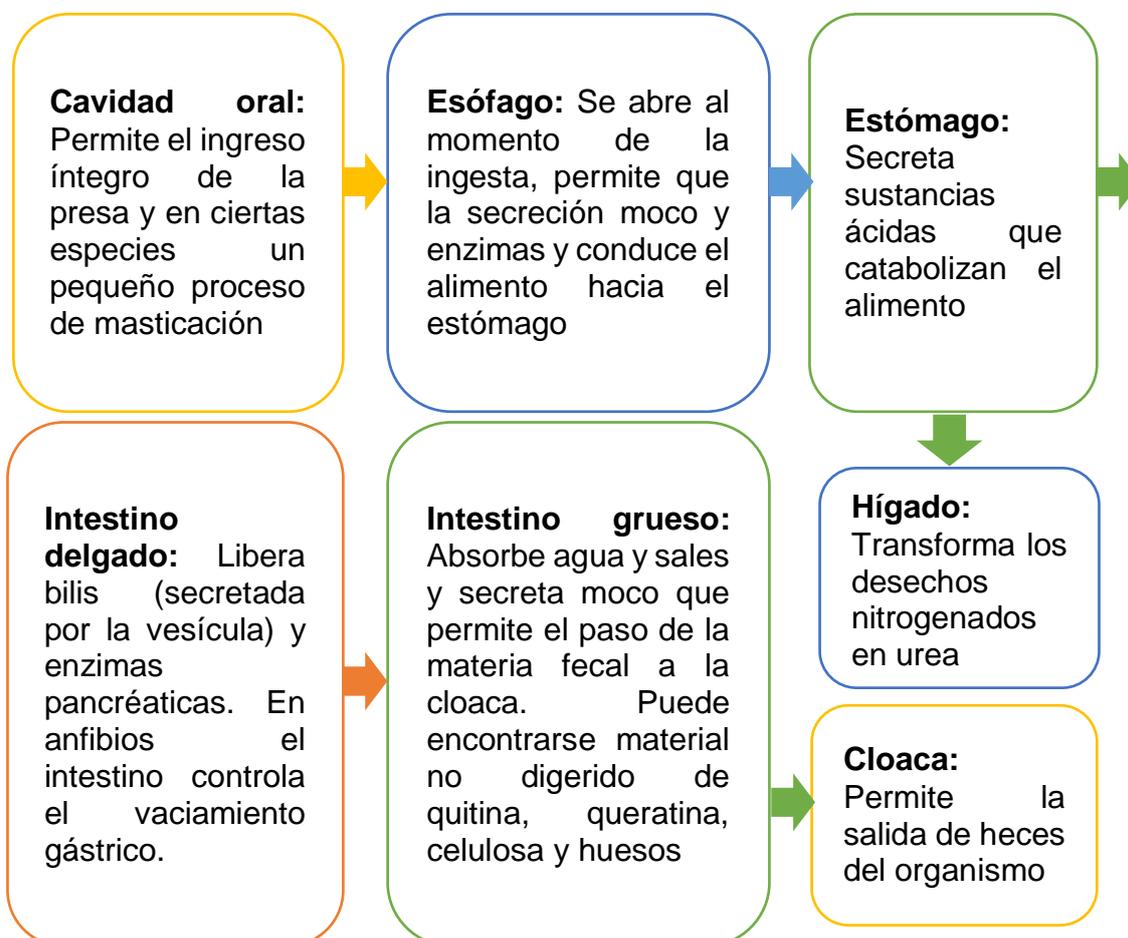


Figura 1. Sistema digestivo

Adaptado de: (Wright & Whitaker, 2001).

### 2.1.5. Sistema urinario

El sistema urinario está constituido principalmente por riñones, uréteres y vejiga y su principal propósito es la eliminación de desechos nitrogenados.

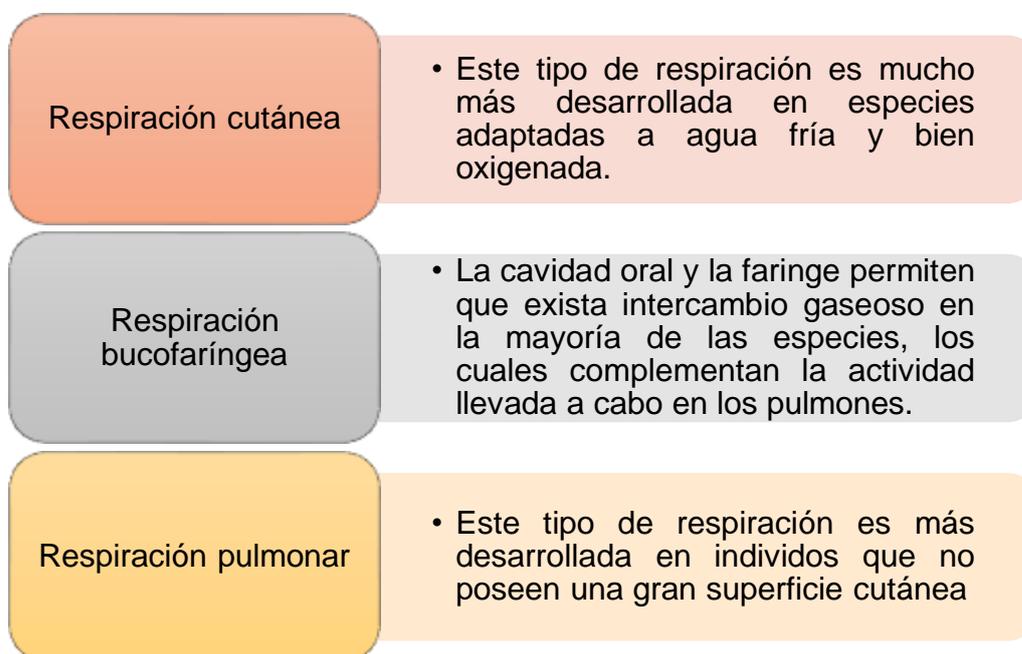
En los anuros adultos los principales desechos nitrogenados que se producen pueden ser dependiendo del entorno amonio, urea o ácido úrico. Las especies con mayor contacto con agua eliminarán los desechos en forma de amonio,

mientras que aquellos que no tengan contacto frecuente con agua eliminarán los desechos en forma de urea (Wright & Whitaker, 2001).

### 2.1.6. Sistema respiratorio

La respiración es un proceso esencial para los anuros debido a que este no únicamente permite obtener el oxígeno que requiere el organismo para sobrevivir, sino que también permite que estos individuos emitan sonidos a través de la expulsión de aire desde los pulmones hacia los sacos bucales en los que se encuentran las cuerdas bucales y finalmente su salida a través de movimientos bucofaríngeos (Wright & Whitaker, 2001).

En anuros adultos la respiración se da por tres mecanismos distintos mencionados en la figura a continuación:



*Figura 2.* Tipos de respiración en anfibios

Adaptado de: (Wright & Whitaker, 2001).

Para que los tres tipos de respiración indicados anteriormente puedan llevarse a cabo se requiere del trabajo de distintos órganos como la boca que permite el paso y bombeo de aire, la tráquea que conduce el aire hacia los pulmones

quienes permiten el intercambio gaseoso. Los pulmones, a pesar de tener un número variable de lóbulos por especie suelen ser del mismo tamaño en ambos lados y no tener divisiones. Adicionalmente, en anfibios la piel es un complemento esencial debido a que es delgada y permite el paso del aire (Wright & Whitaker, 2001).

### **2.1.7. Sistema circulatorio**

El sistema cardiovascular está constituido por (Wright & Whitaker, 2001):

**2.1.7.1. Corazón:** Se conforma por cámaras protegidas por una faja cartilaginosa unida a las costillas. Las tres cámaras del corazón son dos atrios (izquierdo y derecho) separados entre ellos por un septo completo y un ventrículo. El atrio derecho es generalmente más pequeño que el izquierdo.

**2.1.7.2. Sistema arterial y venoso:** Está conformado de rostral a caudal por un plexo lingual venoso, localizado en la lengua, seguido por una vena abdominal central, el cual a su vez se une al sistema de irrigación portal hepático y renal. Este último permite que la sangre ingrese a los riñones a través de la vena post-cava, mientras que el sistema porta hepático conduce la sangre hacia la vena cava.

**2.1.7.3. Sistema linfático:** Está constituido por sacos linfáticos, corazones linfáticos y vesículas linfáticas que permiten controlar el movimiento de la linfa garantizando que este sea unidireccional. Los corazones linfáticos laten de forma sincronizada de 50-60 veces por minuto independientemente del ritmo cardíaco. Se sospecha que existen de 1-5 corazones linfáticos localizados en el área del cóccix, un par localizado a nivel subescapular y otro par localizado hacia craneal o hacia lateral de los huesos pélvicos.

### **2.1.8. Sistema hematopoyético**

El sistema hematopoyético en anuros adultos está constituido por el timo que permite la producción de linfocitos-T, el bazo que se encuentra constituido por

una pulpa roja y una pulpa blanca que permiten la eritropoyesis y la mielopoyesis respectivamente, tejido linfoide asociado a vísceras presente en diversos órganos y médula ósea presente únicamente en anuros adultos (Wright & Whitaker, 2001).

### 2.1.9. Sistema endócrino

El sistema endócrino de los anuros está constituido de forma muy similar al del resto de vertebrados, sin embargo, las secreciones que producen sus glándulas son análogos químicamente muy diferentes a las hormonas producidas en otras especies. Las glándulas y hormonas presentes en los anuros se presentan en la Figura 3 (Wright & Whitaker, 2001):

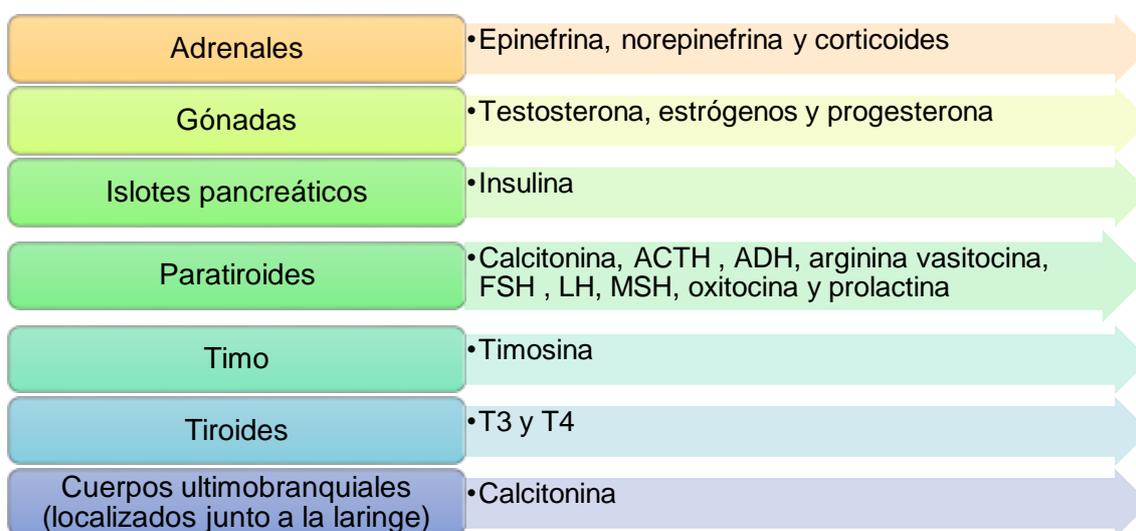


Figura 3. Glándulas y hormonas en anuros

Adaptado de: (Wright & Whitaker, 2001)

### 2.1.10. Sistema reproductor

El sistema reproductor de los anuros está constituido por gónadas. Estos son órganos pares que dependiendo del sexo del individuo pueden ser testículos u ovarios, los cuales se encuentran íntimamente conectados con los riñones mediante el mesorquio y el mesovario respectivamente.

Los testículos pueden cambiar de tamaño dependiendo de la estación y presentan en su interior túbulos eferentes y de Wolffman que transporta el

esperma desde los testículos hasta la cloaca. En cambio, los ovarios presentan forma folicular y se encuentran rodeados por un saco ovárico el cual se rompe al momento de la ovulación liberando los óvulos a la cavidad celómica, los cuales son transportados hacia el infundíbulo, localizado cerca de los pulmones (Wright & Whitaker, 2001).

## 2.2. Conservación de anfibios

“... la tarea de detener, controlar y revertir las tendencias en la deforestación y degradación de los ecosistemas... son desafíos que aún esperan respuesta... la población nacional y local... requiere estrategias y acciones urgentes y efectivas para revertir esta situación” (MAE, 2015).

La conservación de anfibios es un esfuerzo que debe realizarse a nivel mundial para evitar la extinción de estos vertebrados a través de programas de investigación y conservación (IUCN & ASG, 2005).

La IUCN considera que un programa de conservación básico debe contar con las estrategias básicas presentadas en la Figura 4 (IUCN, ASG, & ASA, 2015):



*Figura 4.* Estrategias básicas de un plan de conservación

Adaptado de: (IUCN et al., 2015)

Como se puede apreciar en la figura anterior una de las estrategias básicas para el desarrollo de un plan adecuado de conservación e investigación es la crianza en cautiverio de especies vulnerables o en peligro de extinción. Es por este

motivo que en el año 2005 la PUCE decidió a través del Museo de Zoología diseñar y ejecutar un “Plan Estratégico para la Conservación de los Anfibios Ecuatorianos en Riesgo de Extinción”. Con este propósito, la institución decidió crear un centro que permita la conservación *ex-situ* de poblaciones de anfibios en peligro de extinción conocida actualmente como la “Balsa de los Sapos”, localizado en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales ubicada en el interior del campus PUCE en la ciudad de Quito-Ecuador, en el sector la Floresta (PUCE, 2005).

Actualmente esta institución cuenta con 2000 individuos de diversos grupos etarios de 64 especies diferentes pertenecientes a las familias *Bufo*idae, *Dendrobatidae*, *Centrolenidae*, *Hemiphractidae* (PUCE, 2005):

### **2.3. Principales causas de muerte en anuros**

Las principales causas de muerte en anfibios pueden ser de origen infeccioso y no infeccioso, sin embargo, ambos tipos de causas de muerte se deben en su mayoría a la crianza en cautiverio en malas condiciones, a estrés y exposición de individuos a ambientes contaminados. Entre las principales causas de muerte reportadas por otros autores en anuros se encuentran (Wright & Whitaker, 2001):

#### **2.3.1. Causas infecciosas**

En las Tablas 1, 2 y 3 se puede observar las principales causas infecciosas de muerte.

Tabla 1.

## Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a bacterias

Enfermedad	Agente causal	Factores predisponentes	Hallazgos anatomopatológicos
Síndrome de la pata roja	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>A. salmonicida</i> , <i>Acinetobacter haemolyticus</i> , <i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Flavobacterium indologenes</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Mima polymorpha</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. morgani</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>Staphylococcus epidermis</i> , <i>Streptococcus</i> Grupo B.	Estrés, crianza en cautiverio, malas condiciones ambientales, cirugías recientes	Hiperemia ventral en la piel de los muslos y el abdomen, eritema digital, necrosis y úlceras en la epidermis, pápulas hemorrágicas, equimosis y petequias en la dermis, edema, fluidos sanguinolentos subcutáneos, ulceración en dedos y mandíbula, trasudado celómico sanguinolento, hemoptisis, edema subcutáneo, embolia vascular en músculo, bazo y mesotelio, posible emaciación, atrofia muscular y grasa y dermato-septicemia.
Síndrome de edema	<i>Flavobacterium</i> spp.	Septicemia, mala calidad del agua.	Hidroceloma, edema subcutáneo amarillento, falla hepática y renal por toxinas bacterianas.
Aeromoniasis	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Agua altamente contaminada con la bacteria	Aún se encuentran en estudio, sin embargo, se conoce que estos se asocian a la liberación de hemolisinas y proteasas.
Infección por <i>Flavobacterium indolgenes</i>	<i>Flavobacterium indolgenes</i>	Estado de cautiverio	Pérdida de peso, abdomen péndulo, edema corneal y subcutáneo serosanguinolento, uveitis, congestión pulmonar, hepatomegalia, palidez miocárdica, degeneración de los túbulos renales.

Infeción por <i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Cautiverio con pobre higiene	Espuma en la boca, piel oscurecida, presencia de gránulos en la epidermis, miembros extendidos, esplenomegalia.
Infeción por <i>Serratia</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.	Contacto con insectos y mamíferos.	Septicemia.
Estreptococosis	<i>Streptococcus</i> grupo B	No determinados	Esplenitis necrótica, hepatitis, hemorragia hepática y renal.
Micobacteriosis	<i>Mycobacterium avium</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. xenopi</i> o también llamadas <i>M. abscessus</i> , <i>M. giae</i> , <i>M. ranae</i> , <i>M. piscium</i>	Contacto con acuarios	Heridas con nódulos grises en piel, hígado, bazo, tracto respiratorio y tracto intestinal, granuloma hepático y esplénico, daño renal, secreción nasal y oral mucopurulenta, posible emaciación
Clamidiosis	<i>Chlamydia psittaci</i>	Cautiverio, mala alimentación.	Despigmentación y hemorragias cutáneas, edema subcutáneo y celómico, hepatoesplenomegalia. En histología se observa hepatitis granulomatosa, congestión esplénica, infiltración histiocítica, glomerulonefritis fibrinopurulenta, nefritis intersticial, granulomas diseminados.

---

Adaptado de: (Miller, 2014; O'Rourke & Rosenbaum, 2015; Wright & Whitaker, 2001)

Tabla 2.

Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a hongos

Enfermedad	Agente causal	Factores predisponentes	Hallazgos anatomopatológicos
Micosis por <i>Basidiobolus ranarum</i>	<i>Basidiobolus ranarum</i>	Postmetamorfosis, cohabitación con moribundos, bacteremia, toxemia.	Entomofotoromicosis, afectación a la piel que recubre la superficie ventral, hepatomegalia con múltiples lesiones de color grisáceo. A la histología se observan abundantes macrófagos en hígado.
Quitridiomicosis	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> , <i>B. salamandrivorans</i>	Habitar en cautiverio	Hiperplasia/hiperqueratosis epidérmica, inflamación dérmica, miosis, rigidez muscular.
Hepatitis micótica	<i>Candida parapsilosis</i> , <i>Penicillium</i> spp.	No determinados	Granulomas hepáticos, pústulas hepáticas.
Neumonía micótica	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida glabrata</i>	No determinados	Afectación al sistema respiratorio inespecífica
Cromomicosis (cromoblastomycosis)	<i>Cladosporium carrioni</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>C. herbarum</i> , <i>Fonsecaea dermatitidis</i> , <i>F. pedrosoi</i> , <i>Philaphora</i> spp., <i>Scolecobasidium humicola</i> , <i>Wangiella dermatitidis</i>	Contacto con materia orgánica en descomposición, estrés, inmunosupresión.	Presencia de úlceras o granulomas en la piel, nódulos grisáceos o negruzcos 2-30 mm de diámetro, abdomen distendido, hepatomegalia, esplenomegalia, lesiones nodulares en hígado, bazo, corazón, músculo, meninges, médula ósea y riñón.

Adaptado de: (Miller, 2014; O'Rourke &amp; Rosenbaum, 2015; Wright &amp; Whitaker, 2001)

Tabla 3.

Principales causas infecciosas de muerte en anuros asociadas a parásitos y virus

Enfermedad	Agente causal	Factores predisponentes	Hallazgos anatomopatológicos
Ectoparasitosis por ectoparásitos flagelados	Dinoflagelados de la familia <i>Oodinidae</i>	Habitar en cautiverio	Presencia de lesiones en piel y branquias, producción de moco a nivel general, coloración grisácea de la piel, alteraciones circulatorias y de osmorregulación.
Infección por flagelados sanguíneos	<i>Brugerolleia</i> spp., <i>Hexamita</i> spp., <i>Trypanosoma</i> spp.	Captura de animales silvestres	Destrucción del bazo, degeneración eritrocitaria.
Infección por apicomplexa en sangre	<i>Hemogregarina</i> spp., <i>Hepatozoon</i> spp., <i>Lankesterella</i> spp., <i>Schellackia</i> spp., <i>Babesiosoma</i> spp., <i>Dactylosoma</i> spp.	Consumo de mosquitos infectados, contacto con insectos infectados	Observación del microorganismo en el interior del citoplasma eritrocitario.
Infección por <i>Pseudocapillariodes xenopi</i>	<i>Pseudocapillariodes xenopi</i>	No determinados	Graves lesiones dérmicas, dermatitis erosiva, fallas en la osmorregulación, infecciones bacterianas secundarias
Ranavirus	Iridovirus	No determinados	Necrosis del tejido hematopoyético, hígado, tracto gastrointestinal y piel, eritema cutáneo, petequias, edema subcutáneo, úlceras cutáneas y anorexia

Adaptado de: (Miller, 2014; O'Rourke &amp; Rosenbaum, 2015; Wright &amp; Whitaker, 2001)

### 2.3.2. Causas no infecciosas

Las principales causas no infecciosas de muerte en anfibios se encuentran resumidas en la Tabla 4.

Tabla 4.

Principales causas no infecciosas de muerte en anuros

Enfermedad	Causa	Factores predisponentes	Hallazgos anatomopatológicos
Síndrome de edema	Afectación a la osmorregulación	Toxicidad, mala calidad del agua, enfermedad hepática, renal o cardíaca, hipocalcemia, osteodistrofia	Edema subcutáneo, hidroceloma
Intoxicación por organofosforados e insecticidas carbamatos	Decremento de la actividad de la colinesterasa	Habitar en jardines, contacto con plantas en vivarium, consumo de insectos contaminados	Incremento del hematocrito, alteraciones reticulocitarias, metamorfosis retardada, hemorragias, edema, cambios de color
Intoxicación por insecticidas piretroides y piretrinas	Mayor velocidad y menor frecuencia del movimiento transmembrana de sodio axonal.	Contacto con <i>Pyrethrum</i> spp., contacto con plantas contaminadas y productos antipulgas para mascotas	Rigidez muscular, posición anormal del cuerpo y miembros, escoliosis.
Intoxicación por compuestos halogenados	Varían dependiendo del tóxico	Contacto con soluciones desinfectantes y agua municipal contaminada.	Cambios hepáticos no específicos, lesiones oculares, disminución del crecimiento.

Intoxicación por PVC	Contacto con tetrahidrofurano, metil-etil cetona.	Habitar en terrarios reforzados con pegamentos que contenga PVC, habitar en cautiverio, encontrarse en lugares con inadecuado mantenimiento de las tuberías PVC	Alteraciones neurológicas no específicas.
Intoxicación por amonio, nitritos y nitratos	Elevación del pH interno por contacto sobre 0,02 ppm de compuestos nitrogenados.	Habitar en cautiverio en instalaciones con filtros biológicos inadecuados, habitar en medios con insuficiente cantidad de bacterias que degrade nitrógeno, uso de antibióticos para limpieza del filtro.	Producción excesiva de moco, irritación de superficies en contacto con el compuesto, formación de metahemoglobina (en caso de intoxicación por nitrato), sangre de color oscuro.
Hipertermia	Cambios en el equilibrio osmótico y alteración neuronal.	Habitar en entornos con mal sistema de control de temperatura.	Disfunción neurológica, cambios en la coloración de la piel, eritema o decoloración de la epidermis, infecciones bacterianas secundarias.
Hipotermia	Inmunosupresión y congelamiento	Habitar en entornos que impidan en desarrollo correcto de procesos de hibernación	Áreas de necrosis en miembros, inmunosupresión, infecciones bacterianas secundarias.
Deseccación y deshidratación	Fallas en el sistema circulatorio.	Exposición a ambientes secos y cálidos	Piel seca con superficie viscosa, coloración grisácea de la epidermis, desecación de extremidades.

---

Adaptado de: (Pessier, 2009; Wright & Whitaker, 2001).

### 3. CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

#### 3.1. Diseño del estudio

El estudio es de carácter retrospectivo, descriptivo y observacional debido a que se realizó una evaluación de los hallazgos patológicos a nivel macro y microscópico de los animales que fallecieron en la “Balsa de los Sapos”. El estudio analizó a los anfibios que murieron en el centro de conservación a partir del 29/11/2016.

#### 3.2. Población de estudio

La población analizada en este estudio se conformó de aquellos individuos que fallecieron dentro de las instalaciones de la “Balsa de los Sapos” y que no requirieron ser conservados para el museo de zoología de la PUCE. Los animales fueron colectados desde el 29/11/2016 hasta enero del 2018 tomando en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

1. Haber finalizado su etapa de metamorfosis.
2. Haber fallecido en la Balsa de los Sapos durante el periodo indicado.

Criterios de exclusión:

1. Ser requeridos para estudios internos de la PUCE.
2. Encontrarse en estado de putrefacción y/o autólisis.
3. Haber fallecido durante la captura en campo.
4. Ser requerido para el Museo de Zoología QCAZ de la PUCE.
5. Ser requerido para conservación de recursos genéticos y tejidos.

Tomando en cuenta las anteriores consideraciones la población estudiada se conformó de 20 individuos de las edades, lugares de nacimiento y especies sintetizados en la Tabla 5.

Tabla 5.

Individuos estudiados

Individuo	Edad		Sexo	Lugar de nacimiento	Especie
	Años	Meses			
3870	1	3	Hembra	En el centro de conservación	<i>Espadarana callistomma</i>
3305(1)	4	0	Hembra		
3305	5	0	Hembra		
3392(1)	4	1	Macho	En el centro de conservación	<i>Epipedobates tricolor</i>
3392(2)	4	1	Macho		
3422	4	2	Hembra		
3502	3	8	Hembra		
3566(1)	Desconocido		Macho		
3566(2)	Desconocido		Hembra		
2862	6	8	Hembra	En el centro de conservación	<i>Atelopus limosus</i>
3138	5	0	Hembra		
2889	6	7	Hembra		
3461	3	3	Macho	En el centro de conservación	<i>Hyloxalus nexipus</i>
4091(1)	2	0	Hembra		
4091(2)	2	0	Macho		
3460(3)	4	0	Macho		
3061 (2)	3	10	Macho		
4266	Desconocido		Macho	Carchi, Chicali	<i>Pristimantis laticlavius</i>
887	Desconocido		Macho	Desconocido	<i>Gastrotheca</i> spp.
3443	3	4	Hembra	En el centro de conservación	<i>Chimerella mariaeleanae</i>

### 3.3. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el centro de conservación “Balsa de los Sapos” el cual se encuentra localizado en las coordenadas geográficas 0°12'33.5"S 78°29'28.1"W en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales ubicada en el interior del campus PUCE en la ciudad de Quito-Ecuador, en el sector la Floresta. La “Balsa de Sapos” cuenta con un área de vivarium, un bioterio y un área de cuarentena. Las instalaciones presentan una temperatura mínima de 22°C, una temperatura máxima de 26°C y una temperatura media de 24°C. Dentro de la

misma, los animales se encuentran distribuidos en el interior de 4 salas, cada una cuenta con terrarios rectangulares en cuyo interior se ha colocado tierra, plantas, troncos, hojas y piedras. Cada uno de los terrarios se encuentra debidamente identificado.

A los animales se los alimenta con grillos criados dentro de la institución y se les administra agua filtrada con carbono, la cual también es utilizada para generar humedad cuatro veces al día. Los anuros únicamente reciben iluminación artificial con luz fría y sus terrarios son limpiados tres veces por semana con agua y una esponja. La información de cada uno de los animales es mantenida en una base de datos, sin embargo, estos no se encuentran sexados.

### **3.4. Necropsias**

Los animales que fallecieron y que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión indicados anteriormente, se conservaron en refrigeración hasta la llegada a los Laboratorio de Docencia de la UDLA, donde se realizó la necropsia.

La realización de necropsias se basó en los protocolos de Pessier y Pinkerton (2003) y Wright y Whitaker (2001) y constó de los siguientes pasos:

1. Elaboración de una historia clínica: Entre la información se incluyó la posible causa de muerte, lugar captura del animal, número y tipo de otros animales que habitaban en su entorno y posibles cambios en el entorno tal y como se ejemplifica en el Anexo 1.
2. Análisis post-mortem (necropsia) (Wright & Whitaker, 2001):
  - a. Se elaboró un formato para informe de necropsia y un checklist de los tejidos que deben ser revisados antes de la finalización de la necropsia. Estos formatos se presentan en los Anexos 2 y 3.
  - b. Se realizó una evaluación externa de la anatomía del animal fallecido. En la que se consideró el estado de hidratación, el color de la piel, la condición corporal, el peso (con una balanza de precisión), la longitud

rostro-cloacal (colocando una cinta métrica desde la punta de la nariz hasta la cloaca), el perímetro torácico (rodeando el tronco del animal hacia caudal de los miembros anteriores con una cinta métrica), el grado de autólisis de los tejidos y adicionalmente se examinaron los orificios corporales en busca de signos de trauma o infección (Figura 5).



*Figura 5.* Evaluación externa de un individuo *E. tricolor*

Toda observación llevada a cabo en la piel se complementó mediante el uso de un estereoscopio Krüss KS4000 A. Krüss Optronic, Alemania.

- c. Una vez finalizada la evaluación externa, se colocó al animal en decúbito dorsal (Figura 6).



*Figura 6.* Colocación del individuo en decúbito dorsal

- d. Se realizó una incisión longitudinal desde la sínfisis mandibular hasta el inicio de la cloaca (Figura 7).



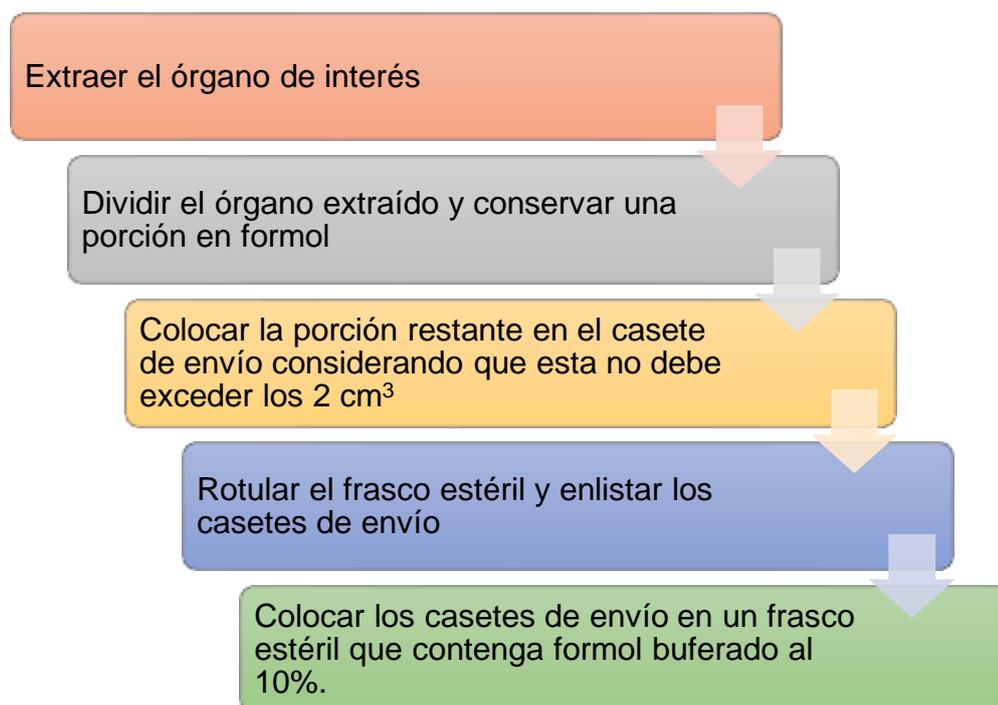
*Figura 7. Incisión inicial*

- e. Se realizó otro corte en la capa muscular para exponer las vísceras (Figura 8).



*Figura 8. Corte de la capa muscular*

- f. Se retiraron las vísceras para examinarlas con mayor precisión. Con este propósito primero se separó la lengua, la glotis y la faringe del tejido blando que las une.
- g. Se jaló con delicadeza la lengua en dirección ventro-caudal para remover el sistema respiratorio, el sistema digestivo y el corazón cortando sus uniones al cuerpo.
- h. Se separó y analizó individualmente cada uno de los órganos.
- i. Se tomó muestras para histopatología de cada órgano observado mediante el procedimiento indicado en la Figura 9:



*Figura 9.* Procedimiento de toma de muestras para histopatología

Adaptado de: (Wright & Whitaker, 2001).

### 3.5. Tinción

Las placas fueron teñidas en el Laboratorio de Ciencias Biológicas y Químicas (LABCYQ) de la UDLA mediante tinción Hematoxilina-Eosina utilizando un protocolo modificado de Fischer, Jacobson, Rose y Zeller (2008) conformado por los pasos mencionados a continuación:

1. Derretir la placa de parafina en una estufa.
2. Sumergir la placa en Neo-Clear (sustituto del xileno) durante 10 minutos.
3. Deshidratar realizando 30 inmersiones en alcohol al 100%, al 95%, al 90%, al 70%.
4. Colocar la placa en hematoxilina durante 5 minutos
5. Lavar con agua corriente la placa.
6. Colocar la placa en eosina durante 3 minutos
7. Rehidratar la placa realizando 30 inmersiones en alcohol al 70%, al 90%, al 95% y finalmente al 100%.
8. Esperar hasta que la placa se encuentre seca.
9. Colocar y fijar el cubreobjetos en la placa

### **3.6. Análisis histopatológico**

Las muestras enviadas al laboratorio fueron procesadas por el Laboratorio de Histopatología de la UDLA. Una vez entregadas las placas, estas fueron observadas y analizadas haciendo uso de un microscopio de luz Olympus CX2 con aumento 4x, 10x, 40x y 100x elaborado por Olympus Latin America Inc. Como referencia para las lecturas se siguió el atlas de histología de anfibios llamado “Color Atlas of *Xenopus Laevis* Histology” (Wirsig-Wiechmann y Wiechmann, 2003). La interpretación de los hallazgos encontrados se realizó mediante el uso de artículos científicos de bases de datos indexadas y libros de patología en colaboración con el Dr. Alexander Genoy-Puerto.

### **3.7. Análisis e interpretación de resultados**

La información recolectada tanto en la necropsia como durante la lectura de placas fue almacenada en una base de datos en el programa Excel © de acuerdo con el tipo de variable indicado en la Tabla 6 para su posterior análisis mediante estadística descriptiva.

Tabla 6.

Variables evaluadas

<b>Variables cualitativas</b>	<b>Variables cuantitativas</b>
Hallazgos macroscópicos externos de los individuos analizados	Longitud rostro-cloacal
Hallazgos macroscópicos de cada uno de los órganos evaluados de los anuros	
Hallazgos microscópicos de cada uno de los órganos evaluados	Circunferencia celómica
Especie	
Sexo	
Signos observados previos a la muerte y duración de estos	Peso y edad

En base a los resultados analizados y a los principales hallazgos histopatológicos observados, se asociaron los resultados a posibles causas de muerte de acuerdo con la Tabla 7.

Tabla 7.

Clasificación de posibles causas de muerte descrita por Montali, 2004

<b>Tipo de causa</b>	<b>Causa de muerte</b>	<b>Mecanismo de muerte</b>
Infecciosa	- Virus - Hongos - Bacterias - Parásitos - Combinación de dos o más de los anteriores	- Choque (hipovolémico, séptico, endotóxico) - Colapso (cardiorrespiratorio, respiratorio) - Emaciación - Falla multiorgánica - Fallas en la osmorregulación
	- Intoxicación (por organofosforados, insecticidas)	- Choque (cardiogénico, endotóxico,

---

	<p>Carbamatos, insecticidas piretroides y Piretrinas, PVC, amonio, nitritos, nitratos).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipertermia</li> <li>- Hipotermia</li> <li>- Deseccación</li> <li>- Deshidratación</li> <li>- Traumatismo (antropogénico accidental, antropogénico intencional, iatrogénico, peleas, golpes y caídas).</li> <li>- Trastornos metabólicos y nutricionales (hipovitaminosis A, hipocalcemia, enfermedad metabólica ósea, deficiencia de tiamina, hipervitaminosis D3, hiperfosfatemia, obesidad, impactación gástrica, lipidosis corneal, caquexia).</li> <li>- Alteraciones congénitas</li> <li>- Neoplasias</li> </ul>	<p>neurogénico, hipovolémico)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Emaciación</li> <li>- Colapso (cardio-respiratorio)</li> <li>- Traumas craneanos, dorso-caudales, toraco-abdominales</li> <li>- Politraumatismos en órganos internos y fracturas coxofemorales (con posible generación de trombos).</li> </ul>
Indeterminada	<p>Se determina una causa de muerte indeterminada 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</p>	
Sospechosa de infecciosa	<p>Se determina esta causa de muerte en los casos en los cuales se hayan observado hallazgos anatomopatológicos</p>	

---

---

e histológicos compatibles con procesos infecciosos, pero que cuyo agente causal no ha podido ser aislado

Eutanasia	Sobredosis de medicamento anestésico administrada debido a una calidad de vida no óptima	Colapso cardiorrespiratorio
-----------	--	-----------------------------

---

Adaptado de: (Montali, 2004; Pessier, 2014; Wright & Whitaker, 2001)

## 4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

Como se puede apreciar en la Tabla 5 y en la Figura 10 existe una gran variación de edad entre los individuos estudiados. Sin embargo, la media de edad de los individuos *E. callistomma* es de 3,42 ( $\pm 1,12$ ) años, de los individuos *E. tricolor* es de 4,0 ( $\pm 0,11$ ) años, de los individuos *A. limosus* es de 6,08 años ( $\pm 0,54$ ) años y de los individuos *H. nexipus* es de 3,02 ( $\pm 0,43$ ) años. Estos valores han sido calculados sin considerar a aquellos individuos cuya edad era desconocida por el personal de la Balsa de los Sapos.

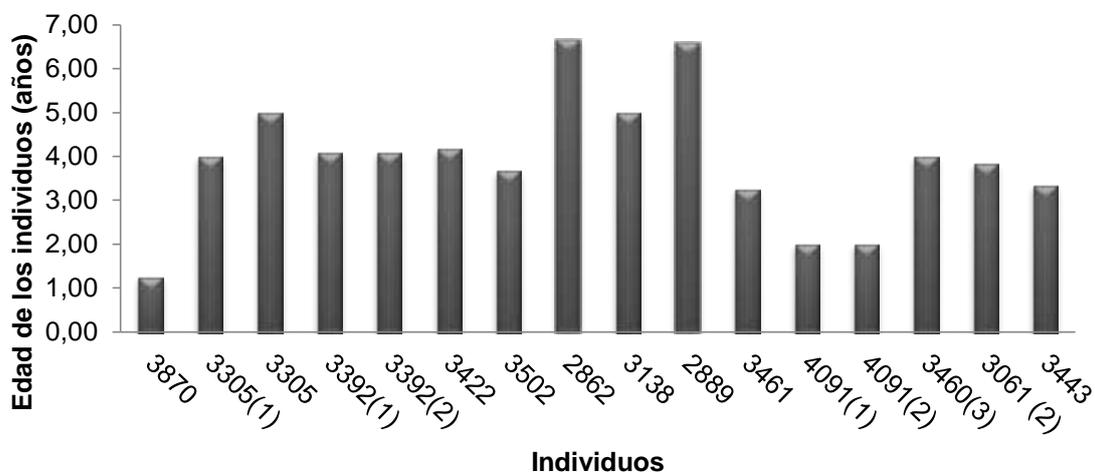
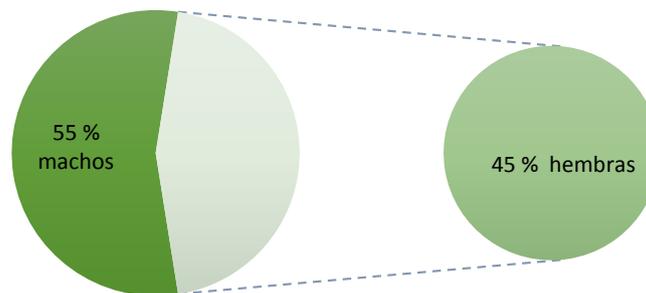


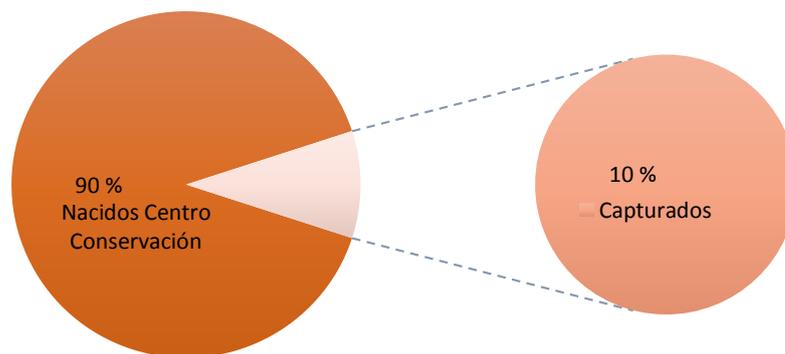
Figura 10. Edades de los individuos estudiados

La población estudiada en este trabajo de investigación se encontró constituida en su mayor parte por hembras existiendo un 45% (9/20) de machos y un 55% (11/20) de hembras como se puede apreciar en la Figura 11.



*Figura 11.* Porcentaje de machos y hembras

Los individuos estudiados son en su gran mayoría nacidos en la Balsa de los Sapos existiendo apenas un 10% (2/20) de individuos capturados directamente de su hábitat natural como se puede apreciar en la Figura 12.



*Figura 12.* Lugar de nacimiento de los individuos analizados

La población evaluada pertenecía a distintas especies existiendo gran variabilidad entre las mismas como se puede apreciar en la Figura 13.

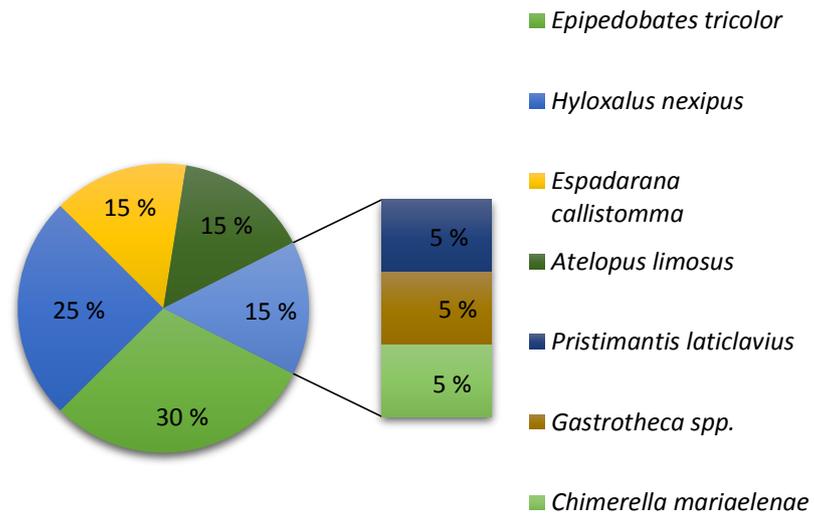


Figura 13. Especies evaluadas

#### 4.1.1. Evaluación previa a la necropsia

Las medidas morfométricas de los individuos de la presente población se encuentran sintetizadas en la Tabla 8. Para datos más específicos de cada individuo se recomienda ver el Anexo 4. En el caso de los individuos *P. laticlavus*, *Gastrotheca spp.* y *C. mariaelenae* los valores colocados en la tabla corresponden a un valor neto debido a que eran únicos en su especie.

Tabla 8.

Medidas morfométricas

Especie	Longitud rostro-cloacal (cm)	Circunferencia celómica (cm)	Peso (gramos)
<i>E. callistomma</i>	♀: 3,36±0,13	♀: 1,83±0,83	♀: 1,74±0,20
<i>E. tricolor</i>	♂: 2,36±0,16 ♀: 2,60±0,15	♂: 2,70±0,26 ♀: 2,50±0,16	♂: 0,66 ±0,03 ♀: 0,92±0,20
<i>A. limosus</i>	♀: 4,60±0,10	♀: 4,73±0,68	♀: 6,10±0,25
<i>H. nexipus</i>	♂: 2,31±0,46	♂: 3,32 ± 0,28	♂: 1,18 ± 0,15
<i>P. laticlavus</i>	♂: 2	♂: 1	♂: 0,41
<i>Gastrotheca. spp.</i>	♂: 5,5	♂: 7	♂: 17,8
<i>C. mariaelenae</i>	♀: 2,2	♀: 2,5	♀: 0,4

Nota: Media ± incertidumbre por repetibilidad

#### 4.1.2. Posibles causas de muerte

En los individuos pertenecientes a la población estudiada se encontraron diversos hallazgos patológicos tanto a nivel macroscópico como microscópico; estas alteraciones si bien no confirman la presencia de enfermedades específicas, en asociación sugieren la presencia de posibles causas de muerte tal y como se sintetiza en la Tabla 9.

Tabla 9.

Posibles causas de muerte, hallazgos y anamnesis de la población estudiada

Especie	Signos previos a la muerte	Hallazgos relacionados con la causa de muerte	Otros hallazgos	Posible causa de Muerte	Observaciones
<i>E. tricolor</i> (3392(1), 3392(2), 3422, 3502, 3566(2), 3566(1))	Decaimiento, edema y disorexia por 7 a 14 días	Melanomacrófagos activos, congestión y alteraciones nucleares en hígado y riñón, endocarditis valvular, hidropericardio (en 3392(2)), miocarditis intersticial, lambertosis y bronquiolitis crónica (con neumonía en 3566(1) y 3502), glomerulonefritis proliferativa (y membranoproliferativa en 3392(1) y 3502), proteinuria (en 3392(2) y 3502) y lipidosis hepática (en 3502 y 3566(2))	Cálculos biliares (en 3392(1) y 3566(2)), colangitis neutrofílica crónica y preneoplásica (en 3502); fibrosis y edema en órganos secundarios; gastritis (no en 3392(1)), Enfermedad metabólica ósea (osteomalacia en 3392(1); osteodistrofia fibrosa en 3566(1) y osteoporosis en 3422 y 3566(2)), dermatosis crónica (sólo en 3392(1) y 3566(1))	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque séptico <b>Tipo de causa:</b> Sospechosa de infecciosa	El individuo 3502 presentó infiltrado eosinofílico generalizado y hemorragias. Los individuos 3392(1) y 3566(1) presentaron ausencia de algunos dedos. En los individuos 3392(1), 3392(2), 3566(1) y 3422 se observó hidropesía de la vesícula biliar. En los individuos 3392(1) y 3392(2) no se observaron signos clínicos previos a la muerte

---

<p><i>H. nexipus</i> (3461, 3460(3), 4091(2), 4091(1))</p>	<p>Ninguno</p>	<p>Proteinuria, necrosis coagulativa en órganos principales, nefritis tubulointersticial, melanomacrófagos activos a nivel generalizado, miocarditis intersticial, endocarditis, congestión y edema en órganos principales, bronquiolitis crónica, neumonía proliferativa y exudativa, erosión gástrica, signos de dermatosis crónica (excepto 3461), degeneración macro y microvesicular hepática, glomerulonefritis proliferativa.</p>	<p>Proliferación y metaplasia del epitelio de la vesícula biliar, hallazgos compatibles con miopatía degenerativa polifásica (y monofásica en 3461).</p>	<p><b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque séptico <b>Tipo de causa:</b> Sospechosa de infecciosa e infecciosa (en 4091(2), 3460(3)).</p>	<p>En 3461 se observa interfase peri-portal, En 4091(1) se evidencia hepatitis, 4091(2) presenta pericarditis constrictiva. En 4091(2) y 3460(3) se encuentra presencia de bacterias (cocos y bacilos) en la piel y en el riñón respectivamente.</p>
--	----------------	--	--	--	--

---

<i>H. nexipus</i> (3061(2))	Ninguno	Hidropericardio, presencia de hepatitis por posibles parásitos redondos y basofílicos con degeneración hidrópica hepática, bronconeumonía exudativa, nefritis tubulointersticial, dermatosis inflamatoria con microabscesos de Munro.	Proliferación metaplásica de la vesícula biliar, miopatía degenerativa monofásica.	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque séptico <b>Tipo de causa:</b> Infecciosa	Presencia de autólisis no evidente en evaluaciones macroscópicas en intestinos.
<i>E. callistomma</i> (3305)	Cambio de color de la piel, decaimiento y anorexia por 30 días	Hipertrofia cardíaca excéntrica, fibrosis valvular y miocarditis, enteritis, dermatosis inflamatoria, glomerulonefritis membranoproliferativa y neumonía proliferativa	Degeneración micro y macrovesicular hepática, atrofia serosa de la grasa con reabsorción ósea	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque séptico <b>Tipo de causa:</b> Infecciosa	En el individuo 3305 se observaron clústeres bacterianos localizados en los túbulos renales
<i>E. callistomma</i> (3305(1))	Cambio de color de la piel, decaimiento y anorexia por 31 días	Neumonía proliferativa, gastritis, dermatosis inflamatoria, neumonía proliferativa, necrosis del miocardio, edema ventricular y glomerulonefritis proliferativa con glomeruloesclerosis.	Miopatía degenerativa polifásica	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque séptico <b>Tipo de causa:</b> Sospechosa de infecciosa	Ninguna

<i>E. callistomma</i> (3870)	Fractura abierta de cadera por 4 días	Degeneración microvesicular con necrosis hepática, degeneración de los miocitos cardiacos, edema atrial y necrosis del miocardio. Presencia de torsión hepática en evaluación macroscópica y desplazamiento craneal de todos los órganos.	Neumonía proliferativa, fibrosis de la válvula espiral, colangitis neutrofilica crónica, infiltrado de melanomacrófagos generalizada	<b>Mecanismo:</b> Choque maldistributivo <b>Tipo de causa:</b> No infecciosa	Hembra se encuentra en ovoposición
<i>A. limosus</i> (2862, 2889)	Ninguno	Hipertrofia cardiaca excéntrica con edema, congestión y fibrosis en órganos principales, fibrosis valvular, hemorragia valvular (2889), congestión hepática con melanomacrófagos activos, edema y necrosis en ovarios, congestión en aparato gastrointestinal	Edema, fibrosis y cálculos en vesícula biliar, glomerulonefritis membranoproliferativa (en 2862) o proliferativa (en 2889 y 3138), neumonía proliferativa y exudativa, degeneración hepática microvesicular (en 2889)	<b>Mecanismo:</b> Choque cardiogénico <b>Tipo de causa:</b> No infecciosa	Se observa la presencia de micosis subcutánea en el parpado derecho en el individuo 2889 quien también presenta una neoplasia compatible con carcinoma renal. El individuo 3138 presentó miocarditis intersticial y riñón terminal
<i>A. limosus</i> (3138)	Anorexia y lesión redonda en párpado derecho por 14 días				

<i>Gastrotheca</i> spp. (887)	Edema severo observado también en su compañero de terrario. También presenta anorexia, sin embargo personal desconoce cronicidad del signo pero da un aproximado de 240 días	Hipertrofia cardíaca excéntrica, degeneración de las fibras musculares y hemorragia del miocardio, neumonía proliferativa y edema pulmonar, congestión centrolobulillar hepática, riñón terminal, glomerulonefritis membranoproliferativa, proteinuria, nefritis tubulointersticial crónica.	Degeneración microvesicular hepática, infiltrado polimorfonuclear en hígado, fibrosis generalizada en la vesícula, miopatía degenerativa polifásica, carcinoma de úlcera por presión crónica, micosis cutánea.	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque cardiogénico <b>Tipo de causa:</b> Sospechosa de infecciosa	Paciente fue capturado 1 año y medio antes de su muerte junto con su compañero de terrario, en el sistema del centro de conservación no se encuentra información sobre su lugar de captura.
<i>C. mariaeleanae</i> (3433)	Inapetencia y pérdida de peso desde por 15 días	Cirrosis hepática con esclerosis cardíaca, glomerulonefritis proliferativa, atrofia glomerular, necrosis tubular, tubulorrexis multifocal, glomeruloesclerosis, Hipertrofia cardíaca excéntrica, neumonía proliferativa.	Proliferación generalizada de la lámina propia de la vesícula biliar, dermatosis crónica, miopatía degenerativa monofásica.	<b>Mecanismo:</b> Falla multiorgánica y choque cardiogénico <b>Tipo de causa:</b> No infecciosa	Ninguna

<i>P. laticlavus</i> (4266)	Anorexia desde el momento de su captura la cual fue hace 60 días	Hipertrofia cardíaca excéntrica, edema y degeneración macrovesicular con polimorfonuclear, bronquiolitis crónica, proteinuria renal, rabdomiólisis y signos de miopatía por esfuerzo por estrés crónico.	Espongiosis cutánea, proliferación de la lámina propia de la vesícula	<b>Mecanismo:</b> Choque cardiogénico, falla multiorgánica <b>Tipo de causa:</b> No infecciosa	Capturado de un bosque localizado en Carchi
--------------------------------	--	--	---	---	---

*Nota:* El tiempo de los signos clínicos observados fueron los indicados por el personal del centro de conservación y no corresponden necesariamente con la cronicidad de las lesiones observadas.

Los hallazgos presentados en la tabla anterior fueron caracterizados en cada órgano en base a las lesiones que más los representan, esta información se encuentra resumida en la Tablas de la 10 a la 25.

*Tabla 10.*

Lesiones características de cada hallazgo observado en vasos sanguíneos

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Congestión	Acumulación de sangre venosa con vasodilatación. Macroscópicamente puede observarse oscurecimiento generalizado, focal o multifocal del órgano afectado	16/20 (80%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 11.

Lesiones microscópicas características de cada hallazgo observado cerca de alteraciones tisulares

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Melanomacrófagos activos	Agrupación de melanomacrófagos en clústeres con liberación de gránulos intracelulares. Macroscópicamente puede verse el órgano oscurecido por la liberación de gránulos de pigmentos como lipofuscina o hemosiderina	14/20 (70%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 12.

Lesiones características de los hallazgos observados en el interior de células, en tejido necrótico y neoplasias

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Alteraciones nucleares	Cariolisis: Pérdida o dilución del núcleo	20/20 (100%)
	Anisocariosis: Irregularidad de los tamaños de los núcleos	
	Cariorrhexis: Fragmentación del núcleo	
	Picnosis: Condensación del núcleo con disminución de tamaño y aumento de la intensidad de la coloración	

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 13.

Lesiones características de cada hallazgo observado en corazón

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Endocarditis valvular	Acumulación de infiltrado inflamatorio en el interior del tejido valvular. Puede ir acompañado de hemorragia, fibrosis y clústeres bacterianos. Macroscópicamente pueden observarse la presencia de proliferaciones de las válvulas (Ver Figura 14)	10/20 (50%)
Hidropericardio	Acumulación de líquido seroso entre el miocardio y el pericardio	2/20 (10%)
Miocarditis intersticial	Consiste en la presentación de linfocitos, macrófagos, neutrófilos y/o eosinófilos entre las fibras del miocardio. Esta lesión suele ir acompañada de edema y es más marcada a nivel intersticial y perivascular y puede generar degeneración de las fibras musculares cardíacas. Esta alteración no suele generar cambios macroscópicos aparentes	11/20 (55%)
Pericarditis constrictiva	Combinación de tejido fibroso en el pericardio acompañado de infiltrado neutrofilico	1/20 (5%)
Hipertrofia cardíaca excéntrica	Dilatación de las cámaras cardíacas con aumento de tamaño de los cardiomiocitos acompañada de agregaciones de cardiomiocitos. Puede ir acompañado de signos congestión generalizada	8/20 (40%)
Fibrosis valvular	Proliferación de tejido fibroso en las válvulas cardíacas	5/20 (25%)
Hemorragia valvular	Presencia de glóbulos rojos dentro de la válvula cardíaca (Ver Figura 15)	1/20 (5%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 14.

Lesiones características de cada hallazgo observado en pulmones

<b>Hallazgo</b>	<b>Lesiones características</b>	<b>N° de individuos afectados</b>
Lambertosis	Hiperplasia del epitelio bronquiolar terminal con metaplasia de las células caliciformes y extensión de estas hacia los alveolos	6/20 (30%)
Bronquiolitis crónica	Presencia de infiltrado inflamatorio en el tejido bronquiolar acompañado de daño tisular manifestado por destrucción de las paredes bronquiolares e hiperplasia o metaplasia del epitelio (lambertosis)	11/20 (55%)
Neumonía proliferativa	Inflamación pulmonar acompañada de aumento del número de neumocitos tipo II que puede o no ir acompañada de necrosis	13/20 (65%)
Neumonía exudativa	Presencia de congestión acompañada de liberación de líquido alto en proteínas hacia los alveolos acompañado de infiltrado neutrofílico (Ver Figura 16)	8/20 (40%)

Adaptado de: (Caswell &amp; Williams, 2016; Zachary, 2017)

Tabla 15.

Lesiones características de cada hallazgo observado en riñones

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Glomerulonefritis membranoproliferativa	Presencia de hiper celularidad en el endotelio glomerular por proliferación de células epiteliales o mesangiales acompañada de infiltrado leucocitario y engrosamiento de la membrana basal y de los capilares (Ver Figura 17)	5/20 (25%)
Glomerulonefritis proliferativa	Existe hiper celularidad sin engrosamiento de tejido y membrana basal tan marcado como el que se presenta en la glomerulonefritis membranoproliferativa	12/20 (60%)
Glomeruloesclerosis	Presencia de atrofia acompañada de fibrosis en los glomérulos	4/20 (20%)
Riñón terminal	Presencia de fibrosis, mineralización, glomeruloesclerosis y focos de túbulos hiperplásicos e hipertróficos en el riñón	2/20 (10%)
Proteinuria	Presencia de un líquido eosinofílico en el interior de los túbulos renales que puede ir acompañada de glomeruloesclerosis	8/20 (40%)
Carcinoma renal	Neoplasia ovoide localizada generalmente en los polos renales con alteración del tejido adyacente y diferenciación tubular maligna a la evaluación microscópica (Ver Figura 18)	1/20 (5%)
Tubulorrexis	Ruptura de la membrana basal de los túbulos renales	1/20 (5%)
Nefritis tubulointersticial crónica	Presencia de infiltrado inflamatorio tanto en los túbulos renales como en el intersticio acompañada de atrofia tubular y fibrosis. Esta puede ir acompañada de infiltrados bacterianos (Ver Figura 19)	6/20 (30%)

Adaptado de: (Cianciolo &amp; Mohr, 2016; Zachary, 2017)

Tabla 16.

Lesiones características de cada hallazgo observado en vesícula biliar

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Cálculos biliares	Material acelular con forma pleomórfica simétrica y geométrica que emite ligera refringencia a la luz en la evaluación microscópica	5/20 (25%)
Colangitis neutrofílica crónica	Presencia de infiltrado inflamatorio mono y polimorfonuclear en el epitelio o lumen de la vesícula acompañada de fibrosis	6/20 (30%)
Colangitis preneoplásica	Presencia de alteraciones celulares acompañadas de metaplasia o displasia del tejido epitelial acompañada de infiltrado inflamatorio	1/20 (5%)
Hidropesía de la vesícula biliar (hidrocolecisto)	Distensión de la vesícula biliar acompañada de abundante acumulación de líquido (Ver Figura 20)	4/20 (20%)

Adaptado de: (Cullen &amp; Stalker, 2016; Segovia &amp; Cuenca, 2013; Zachary, 2017)

Tabla 17.

Lesiones características de cada hallazgo observado en hueso

Hallazgo		Lesiones características	N° de individuos afectados
Enfermedad metabólica ósea (EMO) u osteodistrofias	Osteomalacia:	Fallo en la mineralización ósea manifestada por la presencia de áreas de cartílago con acumulación de material osteoide.	4/20 (20%)
	Osteodistrofia fibrosa:	Reducción de la cantidad de masa ósea por reabsorción osteoclástica acompañada de reemplazo de las áreas afectadas con material óseo fibroso	
	Osteoporosis:	Pérdida de la masa ósea por reabsorción ósea severa. La osteoporosis puede o no ir acompañada de microfracturas óseas	
Reabsorción ósea	Pérdida de material óseo por actividad de osteoclastos (células fagocíticas óseas) que forman poros conocidos como lagunas de Howship		6/20 (30%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 18.

Lesiones características de cada hallazgo observado en hígado

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Lipidosis hepática	Acumulación severa de triglicéridos en el interior de vacuolas globulares dentro del citoplasma de los hepatocitos que desplaza su núcleo. Macroscópicamente el hígado puede presentar pérdida de la angulación de sus bordes y coloración amarillenta.	2/20 (10%)
Interfase periportal	Lesiones necroinflamatorias que rompen la placa que delimita los hepatocitos periportales haciendo que el citoplasma de los sinusoides se expanda al espacio portal. Esta lesión puede acompañarse de inflamación mononuclear (Ver Figura 21)	1/20 (5%)
Cirrosis hepática	Presencia de fibrosis hepática acompañada de nódulos de regeneración e hiperplasia de los conductos biliares. Macroscópicamente se puede observar reducción del tamaño del hígado con formación de múltiples nódulos. La cirrosis puede ir acompañada de una lesión llamada esclerosis cardíaca caracterizada por una fibrosis severa que es más marcada cerca de los vasos sanguíneos centrales	1/20 (5%)
Hepatitis	Lesiones focales o difusas que van acompañadas de infiltrado leucocitario y daño tisular no específico.	2/20 (10%)
Cambio micro y macrovesicular	El cambio microvesicular se encuentra caracterizado por la presencia de vesículas pequeñas de contenido de triglicéridos que no desplaza al núcleo celular. Al existir fusión de las microvesículas se forman vesículas grandes coalescentes y la alteración cambia su nombre por cambio macrovesicular.	8/20 (40%)
Degeneración hidrópica	Aumento de tamaño de la célula por acumulación de líquido en su interior manifestada por permanencia del núcleo y observación difusa de las proteínas intracelulares.	1/20 (5%)

Adaptado de: (Cullen &amp; Stalker, 2016; Zachary, 2017)

Tabla 19.

Lesiones características de cada hallazgo observado en vasos sanguíneos y tejidos adyacentes

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Hemorragia	Escape de glóbulos rojos del interior de los vasos sanguíneos.	2/20 (10%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 20.

Lesiones características de cada hallazgo observado en músculo

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Rabdomiólisis	Necrosis del músculo estriado acompañada de ruptura de las fibras musculares.	1/20 (5%)
Miopatía degenerativa monofásica	Presencia de necrosis de las miofibrillas musculares no ocasionada por la presencia de células inflamatorias y sin intentos de regeneración.	5/20 (25%)
Miopatía degenerativa polifásica	Presencia de necrosis de las miofibrillas musculares no ocasionada por la presencia de células inflamatorias acompañada de intentos de regeneración manifestados por la existencia de mioblastos activos en división y células fagocíticas que destruyen las fibras muertas.	5/20 (25%)
Miopatía por esfuerzo por estrés crónico	Presencia de rabdomiólisis manifestada por la presencia de miofibras musculares parcialmente necrosadas que puede ir acompañada de proteinuria por liberación de mioglobina tras la ruptura de las fibras musculares (Ver Figura 22)	1/20 (5%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 21.

Lesiones características de cada hallazgo observado en tejidos afectados

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Edema	Acumulación anormal de líquido en el espacio intersticial (Ver Figura 23).	17/20 (85%)
Necrosis coagulativa	Presencia de citoplasma eosinofílico acompañado de alteraciones nucleares y pérdida de núcleos. A nivel macroscópico se observa la presencia de áreas pálidas y friables	11/20 (55%)
Metaplasia	Transformación de un tejido epitelial en otro similar	1/20 (5%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 22.

Lesiones características de cada hallazgo observado en estómago

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Gastritis	Presencia de infiltrado inflamatorio mixto que puede o no ir acompañado de otras respuestas tisulares subsecuentes a la inflamación como pérdida de la capa de moco, edema, hemorragia y necrosis.	6/20 (30%)
Erosión gástrica	Pérdida de la mucosa gástrica sin afeción a la membrana basal	4/20 (20%)

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Tabla 23.

Lesiones características de cada hallazgo observado en piel

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Espongiosis	Se observa palidez citoplasmática con desplazamiento del núcleo de la célula afectada resultante de la separación dermoepidérmica por acumulación de líquido intracelular	1/20 (5%)
Dermatosis crónica	Alteraciones cutáneas no específicas que indican la presencia de una enfermedad crónica de la piel manifestada por signos como hiperqueratosis, hiperplasia epidérmica y fibrosis.	9/20 (45%)
Microabscesos de Munro	Acumulación anormal de neutrófilos en el estrato córneo	1/20 (5%)
Dermatosis inflamatoria	Presencia de infiltrados anormales de células inflamatorias rodeadas de cambios patológicos tisulares inespecíficos como necrosis, espongiosis, microabscesos, etc. (Ver Figura 24)	3/20 (15%)
Micosis subcutánea	Presencia de hifas localizadas en el tejido subcutáneo que macroscópicamente se observa como una lesión focal que lentamente se extiende a tejidos adyacentes. También se pueden manifestar por la presencia de mórulas pálidas, eosinofílicas y redondas rodeadas de infiltrado inflamatorio (Ver Figura 25)	2/20 (10%)
Carcinoma de úlcera por presión crónica	Carcinoma de células escamosas con diferenciación maligna en un sitio de lesión crónica. Esta lesión presenta actividad micótica, atipia celular y afección de la membrana basal (Ver Figura 26)	1/20 (5%)

Adaptado de: (Chou et al., 2015; Mauldin &amp; Peters-Kennedy, 2016; Zachary, 2017)

Tabla 24.

Lesiones características de cada hallazgo observado en médula ósea

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Atrofia serosa de la grasa	Reemplazo del tejido graso medular por fluido alto en proteínas (Ver Figura 27)	1/20 (5%)

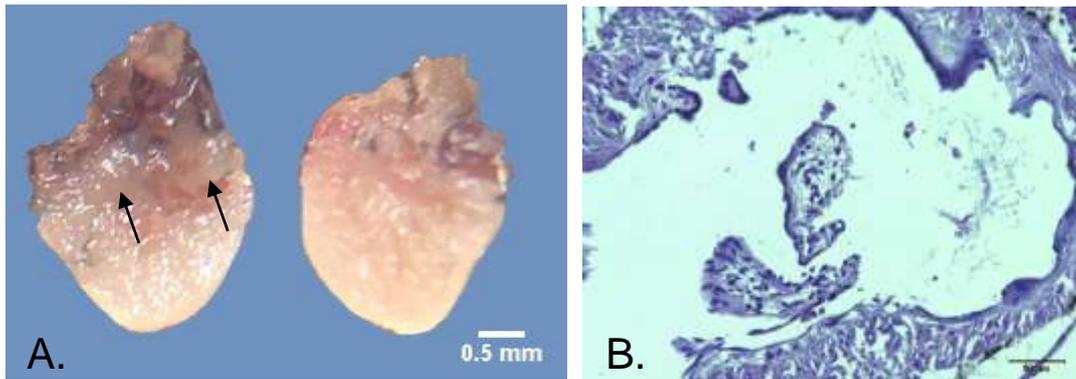
Adaptado de: (Bradley-Siemens & Reisman, 2018; Zachary, 2017)

Tabla 25.

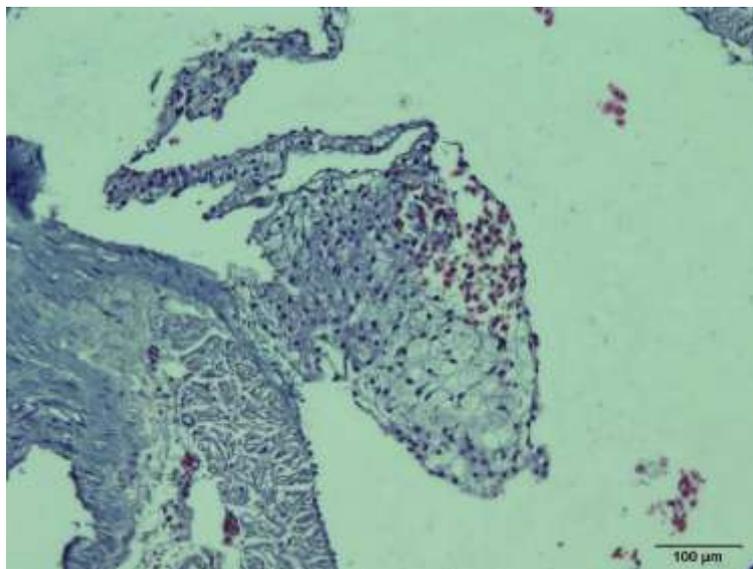
Lesiones características de cada hallazgo observado en intestino

Hallazgo	Lesiones características	N° de individuos afectados
Enteritis	Presencia de infiltrados de células inflamatorias rodeadas de cambios patológicos tisulares inespecíficos como necrosis, alteraciones de las vellosidades, pérdida de mucosa, etc.	1/20 (5%)

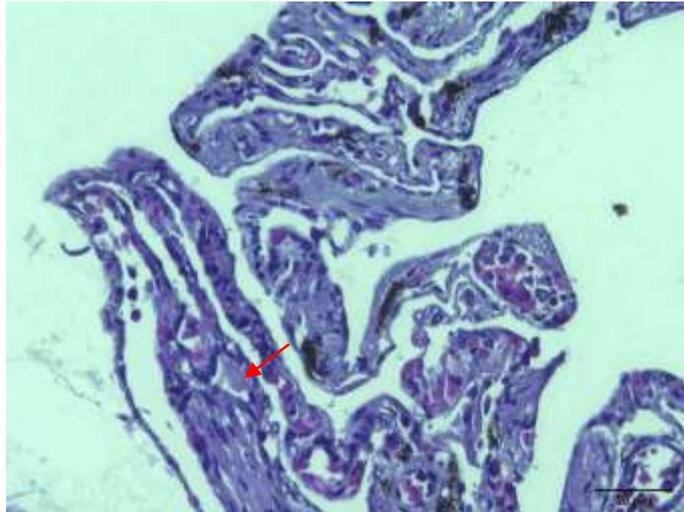
Adaptado de: (Zachary, 2017)



*Figura 14.* Endocarditis valvular. A. Fotografía donde se observa proliferaciones vegetativas de las válvulas cardíacas (flechas). B. Microfotografía donde se observa la válvula espiral degenerada con proliferación de tejido fibroso, infiltrado inflamatorio polimorfonuclear e hiperplasia periférica. Individuo 3392(1). 20x. H&E.



*Figura 15.* Hemorragia valvular. Microfotografía donde se observa la válvula espiral con proliferación generalizada de tejido fibroso y acumulación severa de glóbulos rojos en su interior compatible con hemorragia. Individuo 2889 10x. H&E.

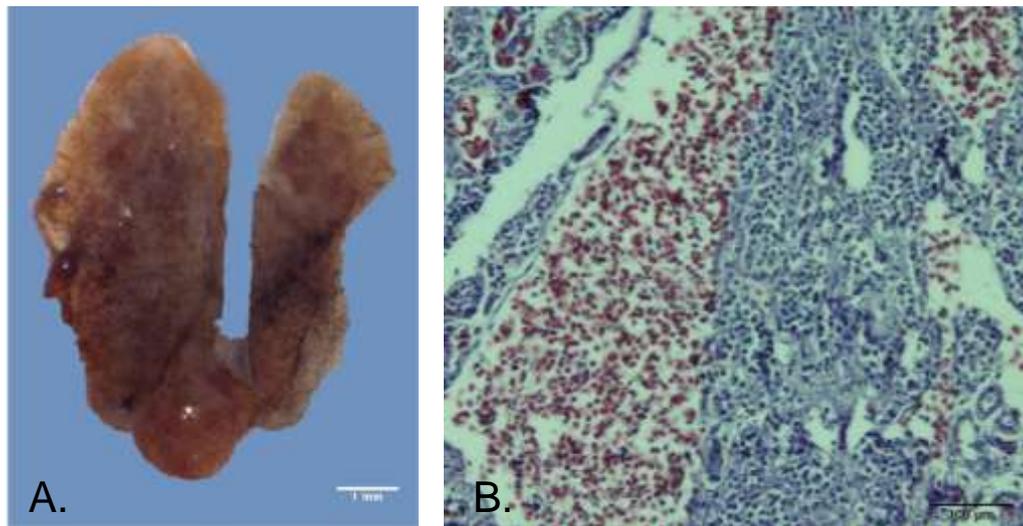


*Figura 16.* Neumonía exudativa. Microfotografía donde se observa congestión multifocal en la pared alveolar acompañada de infiltrado inflamatorio polimorfonuclear. Adicionalmente, se observa hiperplasia multifocal de los neumocitos tipo II en los alveolos. También existe acumulación multifocal de material amorfo compatible con moco alto en proteína (flecha). Individuo 4091(2). 20x. H&E.

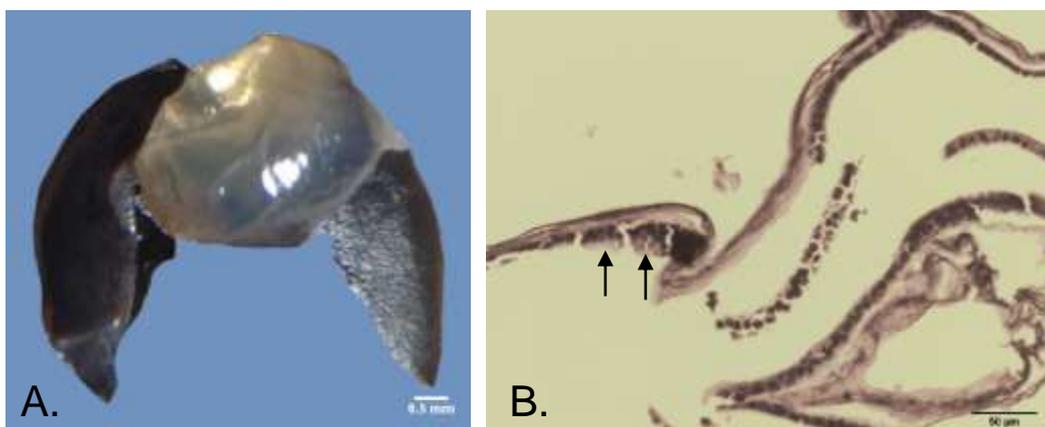


*Figura 17.* Glomerulonefritis membranoproliferativa. A. Fotografía donde se observa hipertrofia del riñón derecho acompañada de congestión generalizada manifestada por una coloración rojo-oscura bilateral. B. Microfotografía donde se observa proliferación multifocal severa de la cápsula de Bowman e hiperplasia

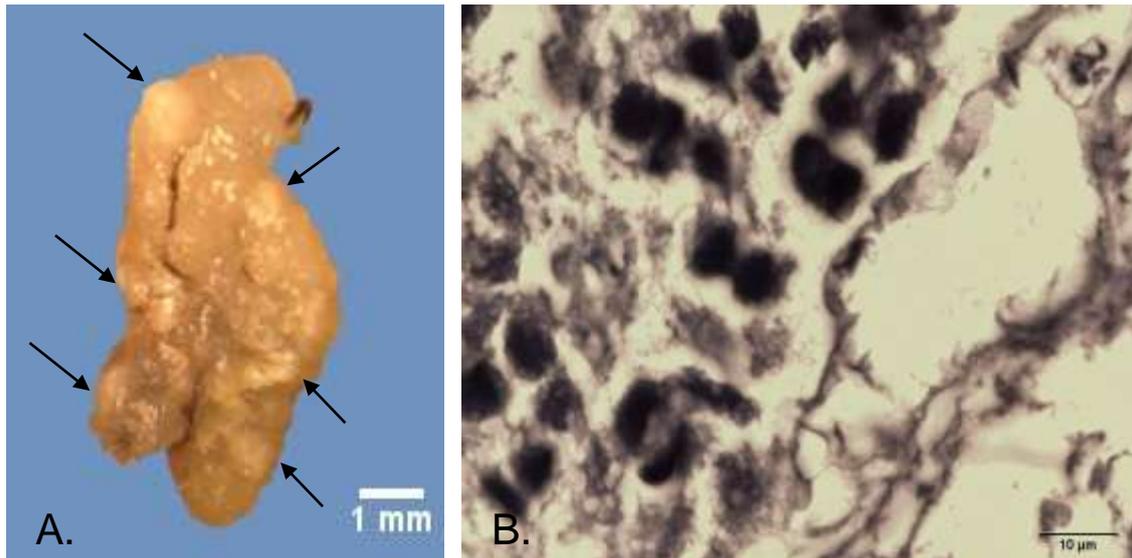
de los glomérulos renales acompañada de congestión multifocal moderada. Individuo 2862. 20x. H&E.



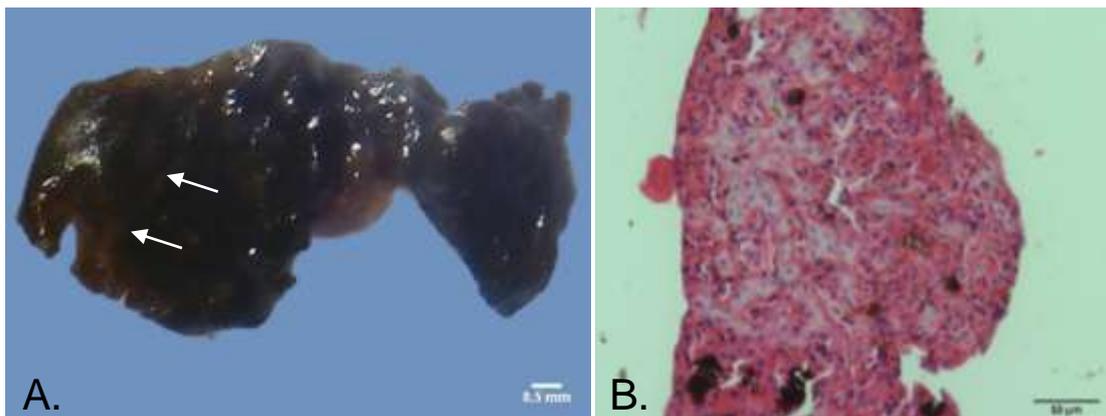
*Figura 18.* Carcinoma renal. A. Fotografía donde se observa hipertrofia del riñón izquierdo y la presencia de una neoplasia bien delimitada ubicada en el polo caudal renal que une ambos riñones y presenta su mismo color y consistencia. B. Microfotografía donde se observa una neoplasia muy irrigada de diferenciación tubular rodeada de congestión con abundante infiltrado inflamatorio mixto. Individuo 2889. 10x. H&E.



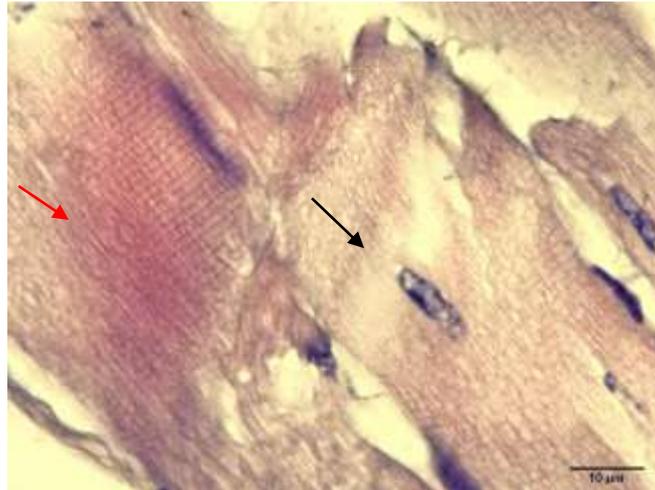
*Figura 19.* Hidropesía de la vesícula biliar. A. Fotografía donde se observa la vesícula dilatada, llena de líquido comprimiendo al parénquima hepático. B. Microfotografía donde se observa displasia multifocal del tejido epitelial (flechas). Individuo 3392(2). 20x. H&E.



*Figura 20.* Nefritis tubulointersticial crónica. A. Fotografía donde se observa palidez generalizada de ambos riñones acompañada de nódulos multifocales llenos de material de color blanco-amarillento (flechas). B. Microfotografía donde se observa fibrosis intersticial generalizada acompañada de dilatación tubular multifocal. Individuo 3460(3). 100x. H&E.



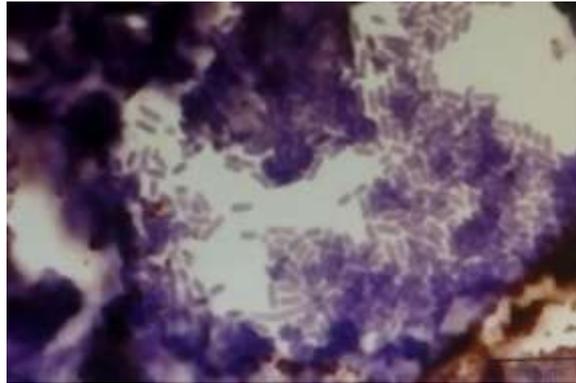
*Figura 21.* Interfase peri-portal. Fotografía donde se observa nódulos necróticos multifocales acompañados de áreas de palidez multifocales (flechas). Microfotografía donde se observa aumento de tamaño generalizado de los hepatocitos periportales acompañada de destrucción de la placa peri-portal. Individuo 3461. 20x. H&E.



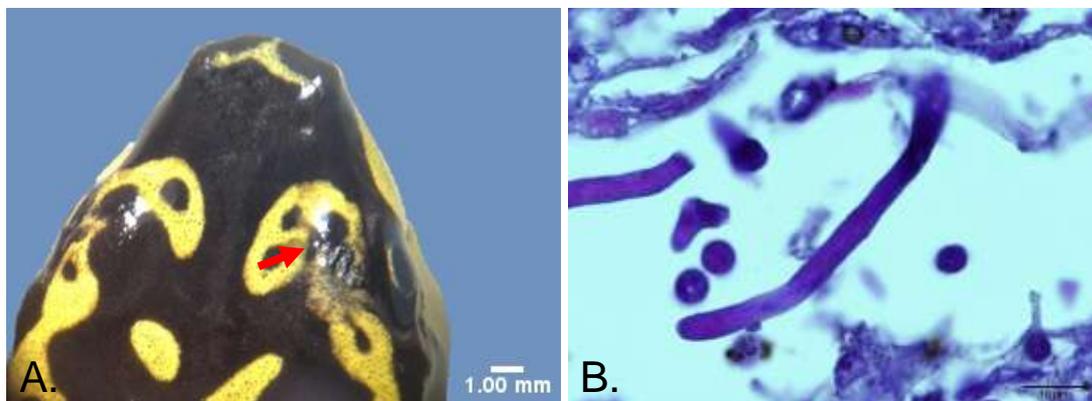
*Figura 22.* Miopatía por esfuerzo por estrés crónico. Microfotografía donde se observa una banda de contracción muscular (flecha roja) con rhabdomiólisis evidenciada por ruptura transversal de las miofibras musculares con pérdida de las estriaciones y fibras rizadas sugerentes a necrosis (flecha negra). Individuo 4266. 100x. H&E.



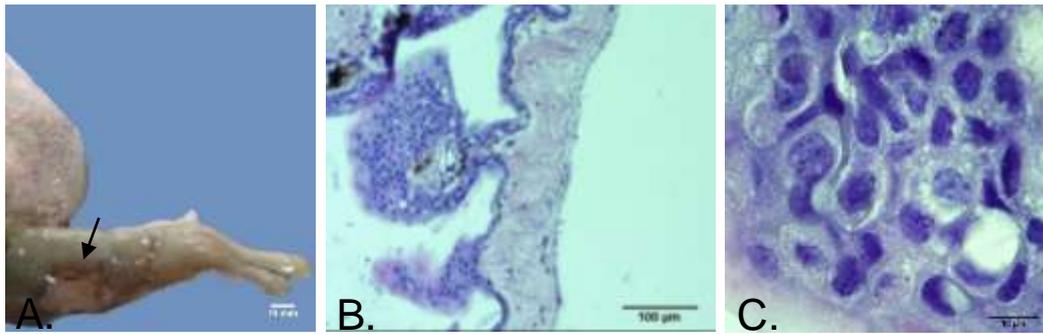
*Figura 23.* Edema generalizado. Fotografía donde se observa acumulación severa de líquido en el espacio subcutáneo, el cual también provoca un aumento en el grosor de la porción proximal de las extremidades. Individuo 887.



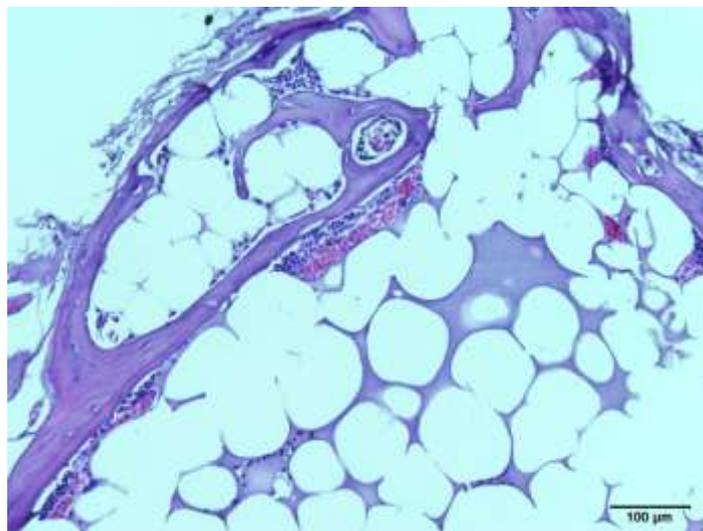
*Figura 24.* Dermatitis inflamatoria. Microfotografía donde se observa formas bacilares compatibles con infiltrado bacteriano mezclado con células mononucleares en el interior de una de las glándulas productoras de moco, la cual se encuentra rodeada de melanomacrófagos activos. Individuo 4091(2). 100x. H&E.



*Figura 25.* Micosis subcutánea. A. Fotografía donde se observa la presencia de una lesión focal, redonda, irregular y de color negro que interrumpe el patrón normal de coloración de la piel (flecha). B. Microfotografía donde se observa la presencia focal de estructuras elongadas compatibles con hifas de hongos rodeadas por infiltrado inflamatorio mixto en la dermis y fibroplasia perivascular. Individuo 2889. 100x. H&E.

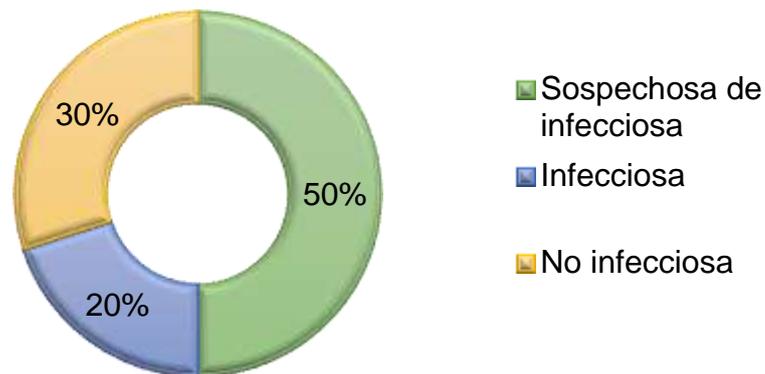


*Figura 26.* Carcinoma de úlcera por presión crónica. A. Fotografía donde se observa en la prominencia ósea del proceso ancóneo una lesión redonda y ulcerada (flecha). B. Microfotografía donde se observa aumento de la producción de moco, acantosis irregular multifocal de moderada a severa con penetración de la membrana basal. 10x. C. Microfotografía donde se observa degeneración balonoide y atipia celular. 100x. Individuo 887. H&E.



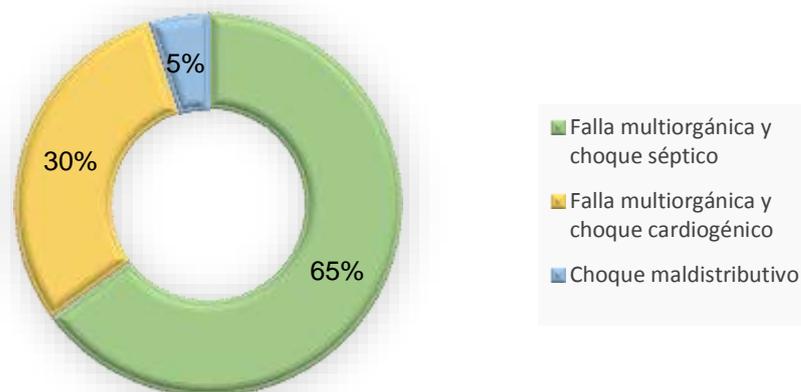
*Figura 27.* Atrofia serosa de la grasa. Microfotografía donde se observa que dentro de la médula ósea existe reemplazo multifocal de los lipocitos por material acelular denso. Individuo 3305. 10x. H&E

En resumen, el 50% (10/20) de los individuos murieron de una causa sospechosa de infecciosa, el 20% (4/20) de una causa infecciosa y el 30% (6/20) de una causa no infecciosa. Estos datos se resumen en la Figura 28.



*Figura 28. Causas de muerte*

La muerte de los individuos se dio por choque séptico y falla multiorgánica en el 65% (13/20) de la población, por falla multiorgánica y choque cardiogénico en el 30% (6/20) y por choque mal distributivo en el 5% (1/20) de los animales estudiados. Estos datos se sintetizan en la Figura 29.



*Figura 29. Mecanismos de muerte en la población estudiada*

Estas causas y mecanismos de muerte fueron determinadas a través de los hallazgos resumidos en la Figura 30.



## 4.2. Discusión

### 4.2.1. Características de la población estudiada

#### 4.2.1.1. Edad y especie

El hecho de que se hayan sacado valores promedio de edad para cada especie y que éstos hayan diferido entre sí, demuestran que la edad de los individuos es un valor altamente variable debido a que cada especie cuenta con su propia expectativa de vida. Lastimosamente, la longevidad de todas las especies estudiadas aún está en investigación, por lo que estos valores no se conocen (Sinsch & Dehling, 2017).

Las edades a las cuales los diferentes individuos analizados murieron son altamente variables entre especies, siendo los animales de menor tamaño los menos longevos en comparación a aquellos individuos de mayor longitud rostro-cloacal. Estos datos coinciden con los obtenidos en un estudio que evaluó el proceso de envejecimiento de los anfibios, el cual llegó a la conclusión de que a menor tamaño del individuo mayor es su metabolismo (Sinsch & Dehling, 2017).

Es muy probable que esta sea la explicación por la cual especies como *E. callistomma*, *E. tricolor*, *H. nexipus* y *C. mariaelenae* vivieron muchos menos años que los individuos *A. limosus* y también la explicación por la cual la mayor parte de los individuos estudiados pertenecen a especies de menor tamaño.

Sin embargo, dentro de las especies *E. callistomma* e *H. nexipus* también se puede observar una gran variación entre las edades de muerte de los individuos, existiendo animales que morían mucho más jóvenes que el resto del grupo.

En el caso de los individuos *E. callistomma*, se encontró que uno de ellos murió a la edad de 1,3 años a diferencia del resto de individuos de su especie que fallecieron entre los 4 y 5 años de edad. Esta diferencia de edades denota que el primer individuo falleció por un proceso agudo y diferente al que sufrieron el resto de los individuos de su misma especie (Zachary, 2017).

En el caso de los individuos *H. nexipus* se pudo observar que dos individuos que habitaban en el mismo terrario murieron a la edad de 2 años a diferencia de los demás anuros de esta especie quienes murieron a edades entre los 3 y los 4 años. Esta diferencia podría indicar que en este terrario existió un factor que predispuso a los individuos a presentar cuadros más graves de la patología que finalmente desencadenó su muerte. Entre los posibles factores predisponentes se encuentran el estrés y la carga de microorganismos presente en el medio en el cual estos animales habitaban. Estudios previos realizados en terneros han reportado que aquellos animales que fueron separados de sus madres tenían mayor probabilidad de morir tras una infección respiratoria en comparación al grupo control (Balm, 2000; Hodgson et al., 2012).

#### **4.2.1.2. Sexo**

En la presente investigación se pudo observar que el 55% (11/20) de individuos que fallecieron en el centro de conservación eran hembras y que el 45% (9/20) eran machos. A pesar de que ambos valores son bastante cercanos al analizar los datos obtenidos para cada especie se puede observar que todos los individuos *E. callistomma* y *A. limosus* son hembras.

Si bien la cantidad de hembras fallecidas en cada especie no es un valor lo suficientemente representativo como para caracterizar la epidemiología de la posible causa de muerte de estos anuros, este puede ser un indicador de la expectativa de vida que tiene cada sexo en las distintas especies. Estudios realizados en otras especies de anuros han demostrado que el tiempo de vida de los machos y de las hembras difiere significativamente entre las especies (Cabrera-Guzmán, Crossland, Brown, & Shine, 2013; Sarasola-Puente, Gosa, Oromi, Madeira, & Lizana, 2011).

Por ejemplo, un estudio desarrollado en Ranas Ágiles (*Rana dalmatina*) demostró que las hembras tenían una longevidad máxima de 6 años frente a los machos quienes tenían una longevidad máxima de 8 años. Estos datos difieren

de los resultados encontrados en un estudio que analizó ranas visón (*Rana septentrionalis*) en los cuales los machos vivían hasta 1 año en comparación a las hembras quienes vivían hasta 2 años (Cabrera-Guzmán et al., 2013; Sarasola-Puente et al., 2011).

#### **4.2.1.3. Lugar de nacimiento**

En el presente estudio se observó que el 90% (18/20) de los individuos que fallecieron nacieron en el centro de conservación y que apenas el 10% (2/20) de los individuos fueron capturados. Estos datos sugieren que el centro de conservación presenta condiciones óptimas para la adaptación de los individuos al cautiverio. Estudios previos han demostrado que la mayor parte de seres vivos pueden adaptarse al cautiverio siempre y cuando este cuente con las condiciones adecuadas para su supervivencia (Frankham, 2008).

#### **4.2.2. Medidas morfométricas**

Las medidas morfométricas de los animales tomadas en este estudio fueron longitud rostro-cloacal, circunferencia celómica y peso. A pesar de que hasta el momento no se ha determinado las circunferencias celómicas y el peso estándar por especie, la PUCE ha definido los rangos de longitud rostro cloacal normal para cada especie. Estos valores se encuentran resumidos en la Tabla 26.

Tabla 26.

Valores de referencia de longitud rostro-cloacal

Especie	Valor de referencia (mm)	
	Machos	Hembras
<i>Espadarana callistomma</i>	26,7-29,6	29,5-31,8
<i>Epipedobates tricolor</i>	19,0–21,0	20,0–23,0
<i>Atelopus limosus</i>	26,5 - 30,7	38,9 - 40,2
<i>Hyloxalus nexipus</i>	20,0–23,9	18,8–23,0
<i>Gastrotheca</i> spp.	34,1–56,8	33,3–64,4
<i>Pristimantis laticlavius</i>	22,5–26,3	37,2–42,9
<i>Chimerella mariaelenae</i>	18,0-20,7	21,0–22,8

Adaptado de: (Coloma, 2017; Guayasamín, Frenkel, Varela-Jaramillo, & Cisneros-Heredia, 2017; Guayasamin, Varela-Jaramillo, C., & Pazmiño-Armijos, 2016. ; Ibáñez, Jaramillo, & Solís, 1995; Ortiz, Coloma, & Frenkel, 2018).

En el caso de los individuos de las especies *C. mariaelenae*, *Gastrotheca* spp. y *H. nexipus*, sus valores de longitud rostro-cloacal se encontraron dentro del rango de referencia. Sin embargo, las especies *E. callistomma*, *E. tricolor* y *A. limosus* presentaron longitudes rostro-cloacales superiores al valor de referencia y en el caso del individuo *P. laticlavius* se observó una longitud rostro-cloacal inferior al valor de referencia (Coloma, 2017; Guayasamín et al., 2017; Guayasamin et al., 2016. ; Ibáñez et al., 1995; Ortiz et al., 2018).

La razón por la cual los individuos *E. callistomma*, *E. tricolor* y *A. limosus* exhibieron valores incrementados de longitud rostro-cloacal se puede deber a las condiciones en las que habitaron estos animales durante su etapa larvaria. Estudios desarrollados en sapos de caña (*Rhinella marina*) han demostrado que la longitud rostro-cloacal de los anfibios es una medida con gran plasticidad y que a mejores condiciones medioambientales durante la etapa larvaria es mayor

la probabilidad de obtener individuos de tamaño incrementado (Cabrera-Guzmán et al., 2013).

En el caso del individuo *P. latyclavius*, la menor longitud rostro-cloacal puede deberse a que este anuro creció en condiciones silvestres lo cual impidió que desarrolle un tamaño corporal similar al observado en individuos en cautiverio debido a la hostilidad del medio (Cabrera-Guzmán et al., 2013).

#### 4.2.3. Hallazgos patológicos encontrados

Los hallazgos histopatológicos serán discutidos a continuación indicando las características generales de cada hallazgo observado y posteriormente contrastando las mismas con procesos patológicos similares.

##### 4.2.3.1. Alteraciones valvulares

Alteraciones similares a las observadas en la presente población han sido reportadas en animales con endocarditis ulcerativa o urémica y endocarditis valvular. Ambas alteraciones se encuentran sintetizadas en la Tabla 27 (Zachary, 2017).

Tabla 27.

Alteraciones valvulares observadas en la población estudiada

Origen	Alteración	Características
Degenerativo	Endocarditis ulcerativa o urémica	Se caracteriza por la presentación de úlceras con inflamación del tejido endotelial y valvular. Con el tiempo se puede llegar a desarrollar fibrosis o mineralización del tejido
Inflamatorio	Endocarditis vegetativa valvular	Presencia de depósitos de fibrina (vegetaciones) que aumentan el tamaño de las válvulas y que con la cronicidad se vuelven fibrosos (verrugas). Las vegetaciones pueden incluir en su interior tejido de granulación, colonias bacterianas e infiltrados polimorfonucleares. Sin embargo, las verrugas pueden llegar a no tener colonias bacterianas.

Adaptado de: (Khaled & Yosef, 2016; Zachary, 2017)

Procesos similares con los que pudo haberse confundido la endocarditis urémica son los hematomas valvulares, los cuales son una alteración congénita caracterizada por formar quistes milimétricos llenos de sangre bien delimitados y sin alteración de la funcionalidad cardíaca. Sin embargo, la acumulación de eritrocitos observada en las válvulas de los individuos analizados se encontraba dispersa en el interior de una válvula severamente fibrosada sin delimitaciones de la lesión. Estos hallazgos eran compatibles con una lesión ulcerativa que provocó el sangrado, hallazgo únicamente reportado en cuadros de endocarditis ulcerativa o urémica (Zachary, 2017).

La fibrosis valvular también pudo haberse confundido con un proceso degenerativo caracterizado por la presencia de tejido mixomatoso en las cúspides valvulares que forman cuerpos redondos de tejido fibroso en animales de edad avanzada denominado endocardiosis. Empero, en la población estudiada la fibrosis no se encontraba delimitada en a las cúspides valvulares como ocurriría en el caso de una endocardiosis. En este estudio la fibrosis se encontraba en toda la superficie valvular e iba acompañada de infiltrado inflamatorio polimorfonuclear en todos los casos observados con excepción de las válvulas de los individuos *A. limosus* las cuales no tenían células inflamatorias. La combinación de proliferación de tejido fibroso generalizada con infiltrado polimorfonuclear son hallazgos únicamente reportados en casos de endocarditis vegetativa crónica. La endocarditis vegetativa es un cambio patológico que no ha sido reportado en anfibios, sin embargo, este ha sido ampliamente documentado en mamíferos y reptiles asociada a procesos infecciosos sistémicos (Mitchell & Tully, 2016; Robinson & Robinson, 2016; Zachary, 2017).

En el caso de los individuos *A. limosus* el hecho de que no se haya observado infiltrado inflamatorio en el interior de la válvula y que en uno de ellos se haya encontrado una endocarditis urémica incrementa las probabilidades de que en ellos el proceso ocurrido se deba a una alteración circulatoria con gran afección renal e insuficiencia valvular. Este tipo de alteraciones han sido ampliamente

reportadas en cuadros de hipertensión venosa en mamíferos y también en una serpiente pitón diamantina (*Morelia spilota variegata*) que a pesar de tener alteraciones valvulares severas al cultivo no presentó indicios de enfermedad infecciosa (Alguire & Mathes, 2018; Rishniw & Carmel, 1999; Zachary, 2017).

#### 4.2.3.2. Alteraciones del pericardio

En la población estudiada se observaron hallazgos compatibles con pericarditis constrictiva crónica e hidropericardio. Las características de ambas alteraciones se encuentran sintetizadas en la Tabla 28 (Zachary, 2017).

Tabla 28.

Alteraciones del pericardio observadas en la población estudiada

Respuesta	Características
Hidropericardio	Consiste en una acumulación excesiva de trasudado en el saco pericárdico
Pericarditis	Inflamación del pericardio acompañada de infiltrados leucocitarios y material fibrinoso. Con la cronicidad estos acúmulos de material fibrinoso se transforman en tejido fibroso pudiendo producirse una pericarditis constrictiva que interfiere con el llenado diastólico. Esta alteración se origina a partir de infecciones que pueden venir por vía hematológica o por heridas penetrantes

Adaptado de: (Zachary, 2017)

El hidropericardio es una alteración que no se ha reportado previamente en anfibios pero que ha sido ampliamente documentada en otras especies animales y puede originarse a partir de un cuadro de hipoproteinemia con disminución de la presión osmótica, a partir de una falla cardiaca con aumento de la presión hidrostática y menor retorno venoso al corazón o por daño vascular con liberación de líquido y fibrina. Estas fallas pueden originarse a su vez a partir de una enfermedad miocárdica primaria, una enfermedad valvular, congénita o neoplásica (Zachary, 2017).

En la población estudiada se observaron dos individuos con hidropericardio. Uno de ellos presentó endocarditis valvular sin alteración miocárdica por lo que muy

probablemente la enfermedad valvular originó una falla homeostática que llevó a la presentación del hidropericardio. En el segundo caso, se evidenciaron hallazgos compatibles con hepatitis parasitaria por lo que muy probablemente el hidropericardio se dio como consecuencia de una disminución en la presión oncótica asociada al daño de los hepatocitos. Los hepatocitos son células fundamentales para la síntesis y almacenamiento de proteínas como la albúmina, al existir una alteración en estos como se observó en el caso del individuo con hepatitis parasitaria el hígado no puede cumplir con su función normal de secreción de albúmina, por lo que los líquidos por ósmosis dejan de permanecer en el espacio vascular y forman edemas (Zachary, 2017).

Casos similares de hidropericardio asociados a hepatitis han sido reportados en patos (*Anas platyrhynchos*) en los cuales se generaron serias alteraciones hepáticas asociadas a una infección por adenovirus que acabó generando hidropericardio (Chen et al., 2017).

#### 4.2.3.3. Alteraciones del miocardio

Las alteraciones del miocardio que concuerdan con las lesiones observadas en los individuos estudiados son miocarditis intersticial presente en el 55% (11/20) de la población e hipertrofia cardíaca excéntrica presente en el 40% (8/20) de la población. Las características de ambas lesiones se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29.

Alteraciones del miocardio observadas en la población estudiada

<b>Respuesta</b>	<b>Características</b>
Hipertrofia excéntrica	Se caracteriza por presentar paredes ventriculares alargadas con ligera pérdida de su grosor acompañada de cardiomiocitos que se apilan en serie. Esta patología se asocia a una sobrecarga de volumen cardíaco
Miocarditis intersticial	Este tipo de miocarditis consiste en la presencia de infiltrado inflamatorio mixto en el miocardio que a pesar de que puede generar afecciones en los cardiomiocitos no es detectable macroscópicamente

Adaptado de: (Robinson & Robinson, 2016; Zachary, 2017)

En los individuos con miocarditis intersticial se evidenció infiltrado inflamatorio mixto y degeneración de los cardiomiocitos acompañada de fibrosis. Otros procesos que también son compatibles con estos hallazgos son la necrosis oncocítica (caracterizada por la presencia de necrosis en el músculo cardíaco seguida por invasión de células fagocíticas que hacen que los sarcotúbulos colapsen y que se forme tejido fibroso), necrosis miocárdica (distinguida por la presencia de áreas pálidas, friables y con posible mineralización que afecta principalmente a los músculos papilares y al tejido miocárdico que se une al endocardio) y miocarditis supurativa (reconocida por la presencia de focos de neutrófilos localizados en el interior de los cardiomiocitos formando abscesos que frecuentemente acompañan una endocarditis vegetativa valvular). Sin embargo, el hecho de no haber encontrado cambios macroscópicos evidentes, sumada a la falta de evidencia de abscesos en el tejido miocárdico descarta la posibilidad de ambas alteraciones (Robinson & Robinson, 2016; Zachary, 2017).

La miocarditis intersticial es una alteración que se ha reportado previamente en anfibios con clamidiosis manifestada histológicamente por la presencia de infiltrado inflamatorio mononucleares y ausencia de neutrófilos. Sin embargo, es importante considerar que la miocarditis intersticial también puede producirse en cuadros de endocarditis originados por otros microorganismo (Pessier, 2014; Zachary, 2017).

En el caso de los individuos que presentaron hipertrofia cardíaca excéntrica se encontró dilatación de las cámaras del corazón sumada a congestión generalizada en la mayor parte de los órganos. Estos hallazgos no son compatibles con ninguna otra alteración miocárdica reportada en animales y demuestra que en estos individuos existió una falla cardíaca congestiva. Hallazgos similares a los observados en los corazones de estos anfibios han sido reportados previamente en aves y bovinos con mal de altura y en reptiles afectados por enfermedades infecciosas sistémicas (Robinson & Robinson, 2016; Schilliger, Chetboul, Damoiseaux, & Nicolier, 2016; Zachary, 2017).

#### **4.2.3.4. Alteraciones de los bronquiolos**

En la población estudiada el 55% (11/20) de los individuos presentaron hallazgos compatibles con bronquiolitis crónica caracterizada por la proliferación de células caliciformes con abundante generación de moco. Puede ir acompañada de infiltrado mononuclear y posible lambertosis. En estos anuros adicionalmente se observó infiltrado inflamatorio en el tejido con daño severo de las paredes bronquiolares. El hecho de que el daño a los tejidos haya sido severo y que no haya obstruido la luz bronquiolar demuestra que el hallazgo no pudo tratarse de otras alteraciones bronquiolares reportadas previamente en la literatura como una bronquiolitis leve (evidenciada por la presencia única de células que fagocitan neumocitos descamados acompañada de repoblación del tejido por células poco diferenciadas) o de una bronquiolitis obliterante (distinguida por la presencia de abundante fibrosis y neutrófilos acompañada de una severa disminución del lumen de los bronquiolos). Los hallazgos observados indican que el proceso fue crónico debido a la presencia de lambertosis en el 30% (6/20) de la población estudiada (Robinson & Robinson, 2016; Zachary, 2017).

A pesar de que en estudios previos no se ha reportado la presencia de bronquiolitis en anfibios, diversos autores concuerdan en que la mayor parte de afecciones al sistema respiratorio observadas en anuros se originan a partir de enfermedades infecciosas con daño sistémico o enfermedades que afectan a la piel y que en consecuencia generan alteraciones de la osmorregulación con posterior daño pulmonar (Nichols, 2000).

#### **4.2.3.5. Neumonía**

La neumonía es una enfermedad inflamatoria pulmonar compleja que puede generar diferentes respuestas en el tejido. En el caso de este estudio se encontró que el epitelio pulmonar presentó aumento en el número de los neumocitos tipo II en el 65% (13/20) de la población y presencia de material alto en proteínas en la luz del sistema respiratorio en el 40% (8/20) de la población. Estos resultados son compatibles con neumonía proliferativa y neumonía exudativa respectivamente (Caswell & Williams, 2016; Zachary, 2017).

En anfibios, la neumonía se ha reportado como un hallazgo inespecífico de diversas enfermedades infecciosas parasitarias, bacterianas, virales o fúngicas. Entre los agentes infecciosos más comunes para anfibios se han reportado calicivirus (responsables de una neumonía intersticial necrótica), neumococos (responsables de una neumonía acompañada de gran infiltrado de células fagocíticas), hongos de las especies *Aspergillus* spp., *Geotrichum candidum* y *Candida* spp. (cuyo tipo de neumonía no ha sido evaluado mediante histopatología), nemátodos *Rhabdias* spp. y trematodos de los órdenes *Haematoloechus* spp., *Pneumonoeces* spp. y *Haplometra* spp. (Wright & Whitaker, 2001).

En la presente población no se observó la presencia de nematodos ni trematodos en los pulmones, ni tampoco se observó hifas de hongos que permitan el diagnóstico de infecciones por los agentes mencionados previamente, dejando como el agente causal más probable a una infección bacteriana. Sin embargo, para confirmar la posible presencia de un agente infeccioso es necesario realizar más pruebas diagnósticas (Wright & Whitaker, 2001; Zachary, 2017).

Otra posible etiología de las neumonías observadas es la hipertensión pulmonar por falla cardíaca la cual puede terminar generando edema pulmonar por aumento de la presión hidrostática, el cual disminuye la superficie alveolar necesaria para el intercambio de gases y genera un proceso inflamatorio (Zachary, 2017).

#### **4.2.3.6. Glomerulonefritis**

De todos los tipos de glomerulonefritis reportados previamente en la literatura aquellos que son compatibles con los hallazgos presentes en los individuos del presente estudio fueron glomerulonefritis membranoproliferativa en el 25% (5/20) de los individuos estudiados y glomerulonefritis proliferativa en el 60% (12/20) de la población. Las características de ambos procesos patológicos se encuentran sintetizadas en la Tabla 30 (Zachary, 2017).

Tabla 30.

Tipos de glomerulonefritis observados en la población analizada

Tipo de glomerulonefritis	Características
Membranoproliferativa	Se caracteriza por presentar un engrosamiento de la membrana basal de los capilares acompañada de aumento del número de células endoteliales glomerulares y mesangiales
Proliferativa	Se caracteriza por presentar un engrosamiento de la membrana basal de los capilares muy discreto, pero con gran aumento del número de células endoteliales glomerulares y mesangiales

Adaptado de: (Zachary, 2017)

En anfibios, la glomerulonefritis ha sido reportada previamente en una colonia de anfibios sospechosa de una enfermedad infecciosa conformada diferentes especies entre ellas *Rana catesbeiana*, *Rana clamitans*, *Rana pipiens*, *Bufo americanus*, *Rana sylvatica*, *Hyla versicolor*, *Pseudacris crucifer*, *Necturus maculosus*, *Ambystoma laterale* y *Ambystoma maculatum* (Vannevel, 2006).

En otras especies animales la glomerulonefritis se ha reportado también como consecuencia de enfermedades que generan depósitos de anticuerpos dentro de los glomérulos provocando una inflamación en el tejido. Con el tiempo, esta inflamación genera reacciones proliferativas y fibróticas las cuales finalizan en una esclerosis renal acompañada de proteinuria por pérdida de la capacidad de filtración glomerular (Zachary, 2017).

En algunos casos el daño puede llegar a ser tan severo que termina generando también alteraciones tubulares. En conjunto la fibrosis, la mineralización por necrosis, la esclerosis glomerular y la hipertrofia tubular conforman una alteración patológica no compatible con la vida conocida como riñón terminal (Zachary, 2017).

#### **4.2.3.7. Neoplasias renales**

En el individuo 2889 se observó la presencia de una neoplasia de forma nodular con diferenciación tubular, fibrosis del tejido adyacente y ubicada en el polo craneal de los riñones. Todos estos hallazgos hacen considerar que este tumor se trata probablemente de un carcinoma renal. Tumores similares que pudieron haber generado alteraciones semejantes son los adenomas renales, los cuales son procesos benignos conformados por epitelio tubular y que macroscópicamente se presentan como un nódulo solitario y pequeño. Sin embargo, el hecho de que el individuo afectado haya presentado un peso menor en comparación al resto de sus compañeros de terrario y que el tumor haya presentado gran infiltrado inflamatorio permite descartar la posibilidad de que se trate de un proceso benigno como un adenoma (Cianciolo & Mohr, 2016).

#### **4.2.3.8. Nefritis tubulointersticial**

La nefritis tubulointersticial agrupa una gran cantidad de enfermedades que afectan principalmente al intersticio y a los túbulos renales. De acuerdo con su cronicidad las nefritis tubulointersticiales se clasifican en agudas y crónicas. A pesar de que ambos hallazgos patológicos presentan infiltrado inflamatorio neutrofílico en el intersticio y generan que los riñones tengan palidez difusa o multifocal con nódulos blanquecinos, ambos procesos se distinguen entre ellos debido a que en el caso de la nefritis tubulointersticial crónica es posible observar la presencia de fibrosis, como ocurrió en el caso de la población analizada (Zachary, 2017).

La nefritis tubulointersticial generalmente es el resultado de una septicemia de origen bacteriano o viral. Aunque, casos de nefritis tubulointersticial aguda también se han reportado como resultado de intoxicaciones (Zachary, 2017).

En anfibios, la nefritis tubulointersticial se ha reportado en una población de ranas asiáticas cornudas (*Megophrys nasuta*) infectados con un parásito de la clase *Chloromyxum* spp. y en un grupo de ranas de caña africanas (*Hyperolius* spp.) infectadas con *Hofferellus anurae* (Pessier, 2014).

En la población estudiada el 30% (6/20) de los individuos presentaron hallazgos compatibles con nefritis tubulointersticial crónica, lesiones que como se mencionó previamente son altamente sugerentes a un proceso infeccioso generalizado (Zachary, 2017).

#### 4.2.3.9. Enfermedad metabólica ósea (EMO)

En la población estudiada el 20% (4/20) de los individuos presentaron alteraciones compatibles con EMO. De los cuales el 5% (1/20) presentó osteomalacia, el 5% (1/20) osteodistrofia fibrosa y el 10% (2/20) osteoporosis. Todos los individuos afectados pertenecían a la especie *E. tricolor*. Las características de estos procesos patológicos se detallan en la Tabla 31. (Zachary, 2017).

Tabla 31.

Principales enfermedades metabólicas óseas

Enfermedad	Osteoporosis	Osteomalacia/ raquitismo	Osteodistrofia fibrosa
<b>Características</b>	Es una disminución en la cantidad de masa ósea (osteopenia) con mineralización normal que ataca primero al hueso trabecular y finalmente al cortical hasta generar microfracturas patológicas	Es una menor mineralización ósea con acúmulo de material osteoide. Esta patología se denomina osteomalacia cuando afecta a individuos adultos y raquitismo cuando afecta a individuos jóvenes.	Osteopenia acompañada de reemplazo del tejido óseo por tejido fibroso óseo. Esta alteración puede ir acompañada de fibroblastos ubicados en la cavidad medular
<b>Etiología</b>	Deficiencia de calcio, anorexia prolongada, inactividad física, hipogonadismo,	Deficiencia de vitamina D y fósforo	Hiperparatiroidismo primario (por daño a la glándula paratiroidea), secundario (por desbalances

---

administración crónica de corticoides y deficiencia de vitamina D	calcio/fósforo), secundario renal (por falla al secretar fósforo y/o por deficiencia de vitamina D) y paraneoplásico (por secreción de sustancias inflamatorias que desorganizan los condrocitos)
---	--

---

Adaptado de: (Zachary, 2017)

A pesar de que el tipo de EMO difiera entre individuos, el hecho de que todos los individuos hayan muerto de edades similares y hayan recibido igual manejo denota que muy probablemente la causa de las alteraciones óseas es la misma para todos los individuos. La única causa que es común a los 3 procesos patológicos observados es la deficiencia de Vitamina D, la cual a su vez pudo haberse originado por una falta de exposición a la luz solar o por una dieta deficiente en este componente (Zachary, 2017).

En anfibios la enfermedad metabólica ósea es una alteración que ha sido ampliamente reportada en anfibios con escasa exposición a rayos UV-B, bajos niveles de colecalciferol en la dieta y con degeneraciones cutáneas que impiden la absorción de Vitamina D3. Estos mismos estudios afirman que no existe un sustituto de la luz solar por lo que es necesario que todo individuo sea expuesto a la misma (Klaphake, 2010).

En los individuos analizados se sabe que estos reciben suplemento vitamínico, sin embargo, debido a las condiciones de cautiverio lo más probable es que estén recibiendo escasa exposición a la luz solar, aunque para confirmar esta sospecha es necesario realizar estudios acerca de las necesidades nutricionales de la especie *E. tricolor*. Es más probable que esta potencial falta de exposición a la luz solar se haya originado a partir del diseño de las instalaciones que no permite el paso de los rayos solares más que al traslado de los individuos desde

su hábitat natural al cautiverio debido a que los individuos *E. tricolor* son originarios de la provincia de Bolívar por lo que están acostumbrados a las condiciones de la serranía ecuatoriana (Craig, Dittmer, & Thompson, 2016; Klaphake, 2010; Zachary, 2017).

#### **4.2.3.10. Lipidosis hepática y cambios vacuolares hepáticos**

En la población estudiada el 40% (8/20) de los individuos presentó hallazgos compatibles con degeneración micro y macrovesicular, el 10% (2/10) presentó hallazgos compatibles con lipidosis hepática con cambio macrovesicular y el 5% (1/20) presentó hallazgos compatibles con degeneración hidrópica. Debido a que en los hígados observados no se encontró degeneración espumosa ni las alteraciones evidenciadas en los casos de glicogénesis (como la presencia de hepatocitos con citoplasma pequeño, líneas pálidas y límites poco definidos), únicamente resta la posibilidad de que estos hallazgos se asocien a una esteatosis hepática (Cullen & Stalker, 2016; Zachary, 2017).

La esteatosis hepática pudo haber tenido dos orígenes (excesiva movilización de lípidos por aumento de la demanda energética) o una excesiva ingesta de energía en la dieta. En la población estudiada estas alteraciones se observaron en las especies *E. tricolor*, *H. nexipus*, *A. limosus*, *Gastrotheca* spp. y *P. laticlavus* (Cullen & Stalker, 2016; Zachary, 2017).

En el caso de los individuos *P. laticlavus*, *E. callistomma* y *Gastrotheca* spp. muy probablemente esto se deba al historial de anorexia presentaron, lo cual hizo que aumentara la movilización de sus reservas de lípidos (Cullen & Stalker, 2016).

En el caso de los individuos *A. limosus* y *E. tricolor* el daño hepático muy probablemente se originó debido al exceso de energía en la dieta, debido a que además de presentar daño hepático algunos de los individuos pertenecientes a estas dos especies presentaron cálculos biliares. La colelitiasis es una patología que puede originarse por un exceso de colesterol en la dieta que provoca la precipitación del colesterol y la formación de cristales en el interior de la vesícula (Greenberger & Paumgartner, 2016; Zachary, 2017).

La lipidosis hepática ha sido reportada en reptiles que han sido sobrealimentados y en anfibios expuestos a largos periodos de anorexia. Estos hallazgos coinciden con los observados en la población analizada (Crawshaw & Weinkle, 2000; Frye, 2015).

En el caso del individuo 3061(2) que presentó degeneración hidrópica, la alteración probablemente se dio como resultado de un proceso infeccioso. De acuerdo con reportes previos el hígado de los anfibios genera este tipo de respuesta en casos de sepsis y endotoxemia. La posibilidad de que esta haya sido la posible causa para los cambios observados en este individuo se ve incrementada debido a la presencia de otros hallazgos como hepatitis, nefritis tubulointersticial y dermatitis inflamatoria con microabscesos de Munro (Crawshaw & Weinkle, 2000; Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Zachary, 2017)

#### **4.2.3.11. Cirrosis hepática**

La cirrosis hepática es una alteración difusa del hígado que genera la formación de nódulos de regeneración, hiperplasia de los conductos biliares y fibrosis. Este cambio resulta de un daño irreversible y severo al tejido hepático. Esta alteración puede ocurrir por intoxicaciones crónicas, colangitis crónica, congestión crónica por falla cardíaca derecha, por desórdenes metabólicos hereditarios, por hepatitis crónica o puede ser también de origen idiopático (Zachary, 2017).

En el presente estudio hallazgos compatibles con este proceso patológico fueron hallados en el 5% (1/20) de los individuos. El animal afectado pertenecía a la especie *C. mariaelenae* y de acuerdo con el personal del centro de conservación el individuo no tuvo ningún contacto con agentes hepatotóxicos. Sin embargo, el individuo presentó hallazgos compatibles con colangitis crónica (proliferación de la lámina propia de la vesícula), hallazgos compatibles con infección sistémica (glomerulonefritis proliferativa, neumonía proliferativa y dermatosis crónica) e hipertrofia cardíaca excéntrica (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Zachary, 2017).

A pesar de que todas las causas presentadas previamente pudieron haber generado este tipo cambio patológico en el hígado la causa más probable fue la insuficiencia cardíaca debido a que el patrón que presentaba la fibrosis era más marcado cerca de las venas centrales; este hallazgo se describe como esclerosis cardíaca. La esclerosis cardíaca es una respuesta de los vasos sanguíneos a excesivos aumentos de presión, los cuales tratan de fortalecer sus paredes mediante la proliferación de tejido fibroso (Zachary, 2017).

La esclerosis cardíaca tiende a formar focos de fibrosis que al extenderse se interconectan formando puentes entre las venas centrales, lo que no ocurre en cuadros de cirrosis por colestasis en la cual la fibrosis afecta principalmente a las triadas portales. Otro hallazgo que permite sospechar que la cirrosis tuvo un origen cardíaco fue la ausencia de hepatitis en este individuo, por lo que la probabilidad de que la cirrosis se haya originado por un problema infeccioso se disminuye considerablemente (Zachary, 2017).

#### **4.2.3.12. Miopatía degenerativa**

En la población observada el 25% (5/20) individuos presentaron hallazgos compatibles con miopatía degenerativa monofásica, el 25% (5/20) con miopatía degenerativa polifásica y el 5% (1/20) con miopatía por esfuerzo por estrés crónico acompañada de rabiomiólisis. Los diferentes tipos de miopatías degenerativas observadas se sintetizan en la Tabla 32 (Zachary, 2017).

Tabla 32.

## Tipos de miopatías degenerativas

Clasificación	Enfermedad	Características
Por etiología	Miopatía por daño circulatorio	Esta miopatía puede ocurrir por 2 causas principales: 1. Por daño circulatorio severo a una arteria principal 2. Por el síndrome del compartimento con aumento la presión intramuscular y disminución en el flujo sanguíneo, el cual se origina a partir de largos periodos en decúbito
	Miopatía por daño tóxico	Se origina a partir del consumo de plantas tóxicas o ionóforos. A la histopatología se observa necrosis multifocal inespecífica
	Miopatía por esfuerzo	Se caracteriza por presentar rhabdomiólisis severa con liberación de mioglobina. Este tipo de alteración puede observarse en la cardiomiopatía por captura, en cuadros de estrés o de ejercicio excesivo
	Miopatía traumática	Esta puede originarse por una laceración, una incisión quirúrgica, quemaduras, inyecciones o heridas por flechas la cual genera una ruptura parcial del músculo que sólo involucra la fascia o una ruptura completa que ocasiona separación de los rhabdomiocitos
	Miopatía por deficiencia nutricional	Esta miopatía se origina por una deficiencia de vitamina E y selenio dando lugar a la enfermedad del músculo blanco en la cual el tejido se observa pálido y necrótico
Por cronicidad	Monofásica	Proceso agudo caracterizado por la presencia de necrosis sin intentos de regeneración
	Polifásica	Proceso crónico caracterizado por la presencia de mioblastos activos indicadores de procesos de regeneración

Adaptado de: (Zachary, 2017)

Considerando que los individuos analizados no presentaron antecedentes ni otros hallazgos que indiquen un proceso tóxico o traumático, los únicos dos posibles orígenes de las miopatías observadas son una deficiencia de vitamina

E y selenio, una miopatía por daño circulatorio y una miopatía por esfuerzo. Las especies afectadas por estas miopatías fueron *H. nexipus*, *E. callistomma*, *C. mariaelena*, *Gastrotheca* spp. y *P. laticlavus* (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Zachary, 2017).

En el caso de los individuos *H. nexipus*, *E. callistomma* y *C. mariaelena* se evidenciaron hallazgos asociados a graves alteraciones cardiovasculares sin otro signo de aumento de los radicales libres del oxígeno (lo cual ocurriría en casos de deficiencia de vitamina E y selenio), por lo que muy probablemente el origen de esta miopatía fue por daño circulatorio a una arteria principal que irrigaba el músculo (Zachary, 2017).

En el individuo *Gastrotheca* spp. a pesar de que se evidenciaron cambios severos en el sistema circulatorio el historial de prolongada falta de movilidad combinado con la presentación de carcinoma de úlcera por presión crónica permite sospechar que las alteraciones musculares observadas muy probablemente se debieron a una miopatía por daño circulatorio por síndrome compartimental. El síndrome compartimental es un proceso patológico que se origina a partir de un aumento de la presión intramuscular con disminución en el flujo sanguíneo consecuente a largos periodos en decúbito que finalmente desencadenan hipoxia en el tejido y posteriormente una miopatía (Zachary, 2017).

En el individuo *P. laticlavus* su historial de captura hace 60 días y la presencia de proteinuria es altamente sugerente a una miopatía por esfuerzo originada por estrés crónico (Balm, 2000; Zachary, 2017).

#### **4.2.3.13. Alteraciones gástricas**

En la población analizada se observaron alteraciones compatibles con gastritis en el 30% (6/20) de los individuos y hallazgos sugerentes a erosión gástrica en el 20% (4/20) de los animales evaluados. Estas alteraciones se caracterizan por presentar las lesiones resumidas en la Tabla 33.

Tabla 33.

## Características de la gastritis y la erosión gástrica

Alteración	Características
Gastritis	Consiste en una alteración inflamatoria de la mucosa del estómago que puede presentarse acompañada de hemorragia, edema, aumento en la producción de moco, abscesos, cuerpos extraños, parásitos, células inflamatorias, úlceras y necrosis. Si el infiltrado inflamatorio observado en el epitelio está compuesto principalmente por eosinófilos su origen estará asociado a una reacción de hipersensibilidad o a la presencia de nemátodos. Si el infiltrado inflamatorio corresponde a otras líneas celulares la etiología deberá ser determinada en base a los hallazgos presentes en otros órganos.
Erosión gástrica	Consiste en una pérdida del grosor del epitelio del estómago, esta alteración puede asociarse a la presencia de gastritis

Adaptado de: (Zachary, 2017)

En los individuos analizados la gastritis se presentó acompañada de un infiltrado inflamatorio mixto compuesto por neutrófilos y células mononucleares. La ausencia de infiltrado eosinofílico indica que la gastritis muy probablemente se asocia a un proceso no parasitario ni asociado a hipersensibilidad. Si bien en anfibios no se ha reportado ampliamente cuadros de gastritis se conoce que procesos infecciosos como infecciones virales por iridovirus pueden llegar a desencadenarla. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que la gastritis también pueda originarse de procesos infecciosos bacterianos o que se dé por contacto crónico de la mucosa gástrica con ácido clorhídrico estomacal o por reflujo biliar como se ha reportado en otras especies animales y en humanos (Greenberger & Paumgartner, 2016; Wright & Whitaker, 2001; Zachary, 2017).

#### 4.2.3.14. Alteraciones cutáneas

A pesar de que las alteraciones cutáneas observadas son bastante inespecíficas en el 45% (9/20) de los casos se observó hallazgos compatibles con dermatosis crónica, en el 15% (3/20) de los individuos analizados se vieron hallazgos asociados con dermatitis inflamatoria acompañados de microabscesos de Munro en el 5% (1/20) de los casos, en el 5% (1/20) de la población se observaron hallazgos compatibles con carcinoma de úlcera por presión crónica y en el 10%

(2/20) de los individuos estudiados se encontraron hallazgos compatibles con micosis subcutánea (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Pessier, 2002).

En el caso de los individuos que presentaron dermatosis crónica se encontró hiperqueratosis, hiperplasia epidérmica y fibrosis. Estos hallazgos son compatibles con infecciones bacterianas inespecíficas, quitridiomycosis, basidiobolomycosis, infección por iridovirus e infecciones virales inespecíficas. Sin embargo, el hecho de que no se haya encontrado evidencia de hemorragias o vesículas en los individuos afectados combinado con la ausencia de cuerpos esféricos fúngicos en el citoplasma de los queratinocitos de la epidermis, hace que la sospecha de una basidiobolomycosis o de una infección bacteriana inespecífica sea mayor (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Pessier, 2002).

Las micosis subcutáneas observadas se evidenciaron en el individuo 2889 por presentar hifas de hongos y en el individuo 887 por presentar esférulas fúngicas pálidas. De acuerdo con la bibliografía consultada el primer individuo pudo presentar esta micosis por hongos de las especies *Mucor* spp. o *Rhizopus* spp. quienes forman hifas. Por otro lado, en el individuo 887 muy probablemente el agente causal de estas micosis pertenezca a las especies *Coccidioides immitis* o *Prototheca* spp. (Pessier, 2002).

En el caso de los individuos que presentaron dermatitis inflamatoria los hallazgos observados fueron infiltrados leucocitarios mixtos y cambios patológicos inespecíficos como espongirosis, necrosis y en el caso de un individuo microabscesos de Munro. Estas alteraciones cutáneas son compatibles con infecciones bacterianas inespecíficas. La probabilidad de que las alteraciones evidenciadas se relacionen con una infección bacteriana son mucho mayores en el individuo que presentó los microabscesos de Munro (ampliamente reportados en dermatitis bacterianas) y en el individuo 4091(2) que presentó clústeres de formas bacilares y cocoides en la piel (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016; Pessier, 2002).

En lo referente al individuo que presentó los hallazgos compatibles con carcinoma de úlcera por presión crónica, este pertenecía a la especie *Gastrotheca* spp. En este individuo se observó una neoplasia con atipia celular que penetraba la membrana basal. Si bien estos hallazgos son compatibles con un sarcoma de tejido blando, la localización de la lesión (en una prominencia ósea) sumada al hecho de que el animal permaneció inmóvil durante un tiempo prolongado hacen que sea altamente probable que la neoplasia encontrada se relacione con un proceso de hipoxia generado por una falta de irrigación a los tejidos por la presión que tenían contra la superficie de contacto, formándose una úlcera que posteriormente se malignizó (Chou et al., 2015).

#### **4.2.3.15. Atrofia serosa de la grasa**

La atrofia serosa de la grasa es una alteración crónica de patogenia aún desconocida que se caracteriza por presentar hipoplasia de las células de la médula ósea y reemplazo de estas por material hialurónico rico en mucopolisacáridos. Esta alteración se observa únicamente en casos de desbalances energéticos severos generalmente asociados a períodos prolongados de anorexia (Zachary, 2017).

En anfibios, la atrofia serosa de la grasa no ha sido reportada previamente, sin embargo, esta patología fue reportada en una pitón real (*Python regius*) que por causas no determinadas presentó anorexia durante 1 año (Rosenthal, Forbes, Frye, & Lewbart, 2008).

En este estudio esta alteración se observó en el 5% (1/20) de la población en un individuo perteneciente a la especie *E. callistomma* en el cual el personal del centro de conservación reportó haber observado decaimiento y anorexia por un período de 30 días previo a su muerte, sin embargo, la lesión observada indica que estos signos pudieron haber sido aún más crónicos (Zachary, 2017).

#### 4.2.4. Posible mecanismo de muerte de los individuos *E. tricolor*

Como se puede apreciar en la Tabla 9, todos los individuos presentaron signos de una infección sistémica (presencia de melanomacrófagos reactivos en órganos altamente irrigados, alteraciones vasculares manifestadas por edema y congestión, alteraciones tisulares preneocróticas en órganos principales, glomerulonefritis proliferativa, membranoproliferativa, proteinuria, neumonía y bronquiolitis crónica). Estos hallazgos permiten detectar la presencia de una potencial falla multiorgánica posiblemente originada por un choque séptico el cual fue ocasionado por una potencial enfermedad infecciosa (Zachary, 2017).

El origen de esta infección muy probablemente se dio por una inmunosupresión relacionada con la edad de los individuos afectados y a una dieta inadecuada combinada con un déficit de vitaminas. En otros estudios realizados en humanos se ha reportado que la dieta alta en grasas provoca una acumulación de colesterol que supera la capacidad de las sales biliares formándose vesículas de fosfolípidos que contienen en su interior al colesterol dando fallas en el vaciamiento de la vesícula que pueden progresar a una colecistitis (Greenberger & Paumgartner, 2016; Hewison, 2011; Jones & Ferguson, 2017; Villarrubia & Navarro, 2000).

Al continuar incrementándose la cantidad de colesterol y existir más colesterol que fosfolípidos, estas vesículas inician un proceso de fusión entre ellas con el objetivo de formar vesículas más grandes que puedan encapsular una cantidad aún mayor de colesterol. Sin embargo, en individuos que presentan predisposición genética a una hiperfunción de los transportadores de colesterol (como se ha reportado previamente en humanos) acompañada glucoproteínas pronucleadoras y déficit de apolipoproteínas AI y AIII, las vesículas no podrán formarse de manera exitosa y estos acúmulos de colesterol pasarán por un proceso de nucleación formándose cristales de colesterol y consecuentemente una colelitiasis capaz de generar una obstrucción total o parcial del conducto cístico e incrementar la presión intraluminal (Greenberger & Paumgartner, 2016; Hewison, 2011; Jones & Ferguson, 2017; Villarrubia & Navarro, 2000).

A su vez, el aumento de la presión genera una distensión de la vesícula con daño tisular provocando la liberación de alarminas, las cuales activan a las células centinela para que libere moléculas vasoactivas y citoquinas provocando una inflamación con aumento de la presión hidrostática y edema con alto contenido de proteínas (Tizard, 2009).

El edema alto en proteínas puede funcionar como un ambiente bacteriano óptimo provocando una proliferación bacteriana la cual combinada con una inmunosupresión asociada a la edad de los individuos (los cuales contaban con una edad aproximada de 4 años, siendo ya una edad avanzada para un individuo *Epipedobates* spp. en cautiverio) y a una dieta baja en vitamina D (evidenciada por la presencia de enfermedad metabólica ósea en la mayor parte de los individuos evaluados), tiene una probabilidad de no haber sido controlado por el sistema inmune y haber provocado un proceso séptico letal (Coloma, 2017; Hewison, 2011; Jones & Ferguson, 2017; Villarrubia & Navarro, 2000).

El mecanismo por el cual la inmunosupresión se produce en individuos de edad avanzada no ha sido estudiado en anfibios, empero, estudios realizados en otras especies revelan que los individuos geriátricos presentan menor capacidad para producir nuevos anticuerpos frente a antígenos extraños acompañada de una gammapatía monoclonal benigna que provoca la proliferación de inmunoglobulinas monoclonales con disminución de otros grupos de anticuerpos. La alteración descrita en la producción de anticuerpos muy probablemente se debe a que en los individuos geriátricos analizados se incrementa la actividad de la subpoblación de los linfocitos B productores de auto anticuerpos (BCD5<sup>+</sup>) acompañado de una disminución de la subpoblación encargada de la producción de neoanticuerpos (BCD5<sup>-</sup>) combinada con un daño en la producción de linfocitos Th que señalizan a las células B para la secreción de nuevos anticuerpos debido a una alteración en la expresión de ligandos y moléculas de coestimulación como la glicoproteína CD40L y la proteína B7-2. En

anfibios, es posible que exista un mecanismo similar al presentado que provoque inmunosupresión en individuos geriátricos (Villarrubia & Navarro, 2000).

La posible inmunosupresión asociada a la edad en la población estudiada adicionalmente pudo haberse combinado con una inmunosupresión por déficit de Vitamina D provocada por una potencial falta de exposición a rayos UV. Estudios previos desarrollados por Hewison (2011) han demostrado que la Vitamina D se encuentra estrechamente relacionada con la expresión del gen de catelicidina, lo cual produce una falla en la fagocitosis generando que los macrófagos sean menos eficientes. Esta podría ser la explicación por la cual en la presente población se encontraron múltiples clústeres de melanomacrófagos en los órganos principales que no lograron controlar la infección generándose alteraciones como glomerulonefritis proliferativa y membranoproliferativa, miocarditis intersticial, endocarditis valvular, bronquiolitis, neumonía y dermatosis inflamatoria (Hewison, 2011; Zachary, 2017).

La falla en el sistema inmunitario pudo conducir a los animales a presentar un proceso infeccioso no únicamente bacteriano sino también posiblemente parasitario, siendo este el motivo por el cual existía un individuo con infiltrado eosinofílico generalizado. En anfibios, si bien no existen estudios profundos acerca de su inmunología se ha dilucidado hasta el momento únicamente una causa para la elevación de eosinófilos, la parasitosis por tremátodos. Esta alteración no ha sido reportada en casos de viremias por lo que a pesar de que existen múltiples hemorragias lo más probable es que estas se hayan originado por un fallo hepático (Claver & Quaglia, 2009; Forzan, Smith, Vanderstichel, Hogan, & Gilroy, 2016).

Al no existir una respuesta inmune adecuada o la aplicación de un tratamiento contra la potencial infección, esta pudo progresar en los individuos analizados generando alteraciones crónicas en los tejidos como displasia del tejido bronquiolar en pulmones (lambertosis), afección de los glomérulos con consecuente presentación de proteinuria e hipoxia tisular manifestada por la

presencia de alteraciones nucleares (cariolisis, cariorexis y anisocariosis) combinadas con áreas necróticas en el tejido (Zachary, 2017).

La cronicidad de la infección también se manifestó a nivel de vesícula biliar observándose la presencia de lesiones preneoplásicas (como displasia epitelial). A su vez, estas proliferaciones anormales de tejido pueden llegar a agravar aún más la estasis del flujo biliar provocando que este se acumule y existan problemas de reflujo que acaben por afectar a la mucosa del estómago por infiltración de sales alcalinas. Estudios previos han demostrado que la mucosa gástrica de las ranas *Lithobates catesbeianus* presenta destrucción de las células de la mucosa gástrica al ser expuesta durante 30 minutos a las sales biliares taurocolato, taurodeoxicolato, deoxicolato y colato, siendo este el mecanismo por el cual los individuos estudiados presentaron gastritis (Segovia & Cuenca, 2013; Silen & Forte, 2000).

La suma de todas las alteraciones anteriormente mencionadas tiene la capacidad de producir una falla multiorgánica y alteraciones circulatorias asociadas a la presencia de alteraciones valvulares por endocarditis, las cuales a su vez provocan congestión y edema generalizados. Al existir fallas circulatorias con un deficiente sistema inmunitario, las bacterias fácilmente pueden empezar a proliferar y alcanzar la circulación liberando toxinas que alteran a las células endoteliales y generan una mayor permeabilidad vascular sumada a una respuesta inflamatoria endotelial con abundante liberación de sustancias vasodilatadoras que generan un menor flujo sanguíneo con aumento de los factores de coagulación en los capilares. Al coagularse la sangre en el interior de los capilares se puede producir necrosis tisular provocando falla multiorgánica. Esta falta de oxigenación también se manifiesta en órganos como los dedos los cuales pueden necrosarse y desprenderse como se observó en dos individuos de la población estudiada (Shimbo, Yokota, Miyamoto, Okuhara, & Ochi, 2015; Zachary, 2017).

La falla multiorgánica mencionada anteriormente combinada con la continua liberación de toxinas finalmente produce un choque séptico. Es por este motivo que a pesar de que no se encontró al agente causal de la infección existen múltiples hallazgos en los individuos que permiten sospechar de la presencia de la misma, por lo cual la causa de muerte podría ser clasificada como posiblemente infecciosa como se presentó en la Tabla 9 generada por una dieta inadecuada, inmunosupresión y falta de exposición a la luz solar con activación de los mecanismos ya descritos (Zachary, 2017).

#### **4.2.5. Posible mecanismo de muerte de los individuos *H. nexipus***

De acuerdo con la información proporcionada por el personal a cargo de la Balsa de los Sapos de la PUCE la institución maneja una temperatura ambiental que varía entre los 22 a los 24°C. Sin embargo, esta temperatura no corresponde con la recomendada para individuos de la familia *Dendrobatidae* quienes requieren de una temperatura ambiental menor a 18°C. Este evidente aumento en la temperatura puede llevar a los individuos expuestos a la misma a desarrollar hipertermia. A pesar de que los efectos que tiene una elevación de la temperatura ambiental en el organismo de los anfibios no han sido por completo dilucidados, reportes previos han indicado que un exceso de calor ambiental puede llevar a los anfibios a desarrollar agitación, movimiento excesivo, pérdida de peso sin anorexia e inmunosupresión. Estos signos patológicos muy probablemente se asocien a una alteración metabólica con mayor movilización de reservas energéticas (Harvey, 2007; Wright & Whitaker, 2001).

Este incremento en la cantidad de energía disponible y de actividad física puede conllevar a un sobreesfuerzo con agotamiento del oxígeno celular disponible y posterior activación del metabolismo anaeróbico por alteración del ciclo de Krebs sustitución del piruvato por lactato, el cual genera acidosis muscular y rabiomólisis. Adicionalmente, los aumentos bruscos en la gluconeogénesis pueden llevar a una mayor movilización de los triglicéridos con consecuente lipidosis hepática manifestada con una degeneración micro y macro vesicular de los hepatocitos, la cual puede llegar a provocar colestasis (con posterior

colecistitis) (Balm, 2000; Litster, Straw, Rose, & Turner, 2002; Miller & Fowler, 2015; Zachary, 2017).

Por otro lado, la inmunosupresión provocada por el estrés calórico aumenta la susceptibilidad de los individuos a la presentación de infecciones. Empero, debido a la gran cantidad de patógenos que pueden afectar a los anfibios es muy complicado determinar sin el uso de pruebas adicionales el agente causal de las potenciales infecciones observadas en la mayor parte de los individuos estudiados. No obstante, los signos observados en los individuos 3461, 4091(1), 4091 (2) y 3460 (3) son altamente sugerentes de una infección bacteriana con acúmulo de complejos inmunes a nivel glomerular (glomerulonefritis proliferativa y membranoproliferativa) e insuficiencia valvular consecuente a endocarditis con estenosis valvular. De hecho, en los individuos 4091(2) y 3460 (3) fue posible observar la presencia de acúmulos bacterianos en piel y en riñones respectivamente (Balm, 2000; Wright & Whitaker, 2001; Zachary, 2017).

En aquellos individuos afectados, esta potencial infección bacteriana pudo haberse originado una sepsis a partir de la excesiva proliferación de microorganismos no regulada por el sistema inmune. El acúmulo de bacterias sumada a la liberación de toxinas pudo generar un choque séptico con consecuente falla multiorgánica y posterior muerte (Zachary, 2017).

En el caso del individuo 3061 (2) también se evidenció la presencia de un proceso infeccioso. Sin embargo, el agente causal de esta infección fue un parásito redondo y basofílico hallado entre los hepatocitos combinado con una aparente infección bacteriana que llegó a generar sepsis con consecuente nefritis, dermatitis y bronconeumonía exudativa (Zachary, 2017).

La afección hepática producida por este microorganismo demostró ser bastante severa para los hepatocitos los cuales presentaron degeneración hidrópica. Este daño hepático combinado con la nefritis pudo haber ocasionado un edema

generalizado, el cual condujo a la presentación de hidropericardio con consecuente falla de la contracción cardíaca (Zachary, 2017).

El parásito previamente mencionado poseía una morfología compatible con otros microorganismos de los Filos *Myxozoa* y *Apicomplexa*. Las posibles especies que pudieron haber generado esta infección se encuentran resumidas en la Tabla 34 (Baker, 2008).

Tabla 34.

Posibles agentes causales de la infección observada

Filo	Posibles agentes causales
<i>Myxozoa</i>	<i>Chloromyxum</i> spp., <i>Myxidium</i> spp.
<i>Apicomplexa</i>	<i>Perkinsus</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Eimeria</i> spp.

Adaptado de: (Baker, 2008)

Entre los posibles agentes causales mencionados previamente el más probable de acuerdo con el resto de los signos observados y a la edad del animal es *Eimeria* spp., debido a que *Perkinsus* spp. ha sido reportado únicamente en animales que no se encuentran en cautiverio y *Cryptosporidium* spp., *Chloromyxum* spp. y *Myxidium* spp. no suelen generar lesiones hepáticas en anfibios. Sin embargo, debido a la falta de pruebas adicionales esta sospecha no puede ser confirmada (Baker, 2008; Hartigan et al., 2011; Isidoro-Ayza et al., 2017).

#### 4.2.6. Posible mecanismo de muerte de los individuos *E. callistomma*

La especie *Espadarana callistomma* se encuentra caracterizada por desarrollar su ciclo de vida en ramas de árboles localizadas entre 0,5 y 1,8 metros sobre la superficie del suelo (Guayasamin et al., 2016). Es por este motivo que para mantenerlas en adecuadas condiciones de cautiverio se recomienda enriquecer su ambiente con abundantes ramas que les permitan escalar. En el centro de conservación Balsa de los Sapos el terrario en el que estos animales habitaban

no contaba con este tipo de enriquecimiento ambiental, pudiendo hacer que los animales cautivos desarrollen procesos de estrés.

El estrés combinado con la inmunosupresión originada por la edad avanzada de los individuos 3305 y 3305 (1) pudo haber facilitado la proliferación de agentes infecciosos bacterianos en los organismos de ambos individuos, siendo esta la causa por la cual presentaron signos de infección generalizada como glomerulonefritis, miocarditis intersticial, dermatosis inflamatoria y neumonía (Villarrubia & Navarro, 2000; Zachary, 2017).

Sin embargo, como se puede observar en la Tabla 11, la infección se encontraba mucho más avanzada en el individuo 3305(1) quien presentó un cuadro de enfermedad renal y cardíaca mucho más severa existiendo glomeruloesclerosis y glomerulonefritis membranosa en vez de membranoproliferativa acompañada de fibrosis de las válvulas cardíacas. Esta variación en las presentaciones de la enfermedad muy probablemente se deba a la cantidad de tiempo que el individuo pasó con la infección (el individuo 3305(1) murió con 5 años de edad y el individuo 3305 con apenas 4 años de edad), siendo esta la posible explicación por la cual en los riñones el depósito de inmunoglobulinas pudo ser reabsorbido de forma multifocal, dando paso a depósitos proteicos manifestados como esclerosis glomerular y también el motivo por el cual la infección cardíaca pudo progresar del miocardio al endocardio y producir fibrosis valvular (Zachary, 2017).

Las alteraciones mencionadas previamente en ambos individuos muy probablemente desencadenaron la muerte por falla multiorgánica y choque séptico mediante los mecanismos explicados previamente (Zachary, 2017).

En el caso del individuo 3870 a pesar de que este también presentaba signos de infección crónica sistémica como neumonía proliferativa, fibrosis de la válvula espiral, e infiltrado generalizado de melanomacrófagos, aparentemente esta afección era posiblemente controlada por el sistema inmunológico permitiendo

que el animal pueda desarrollar actividades fisiológicas no esenciales como la ovoposición. En este organismo la muerte se produjo muy probablemente a raíz de un proceso traumático no reportado por el personal a cargo del centro de conservación. Este trauma se evidencia por la presencia de una fractura abierta de cadera, desplazamiento craneal de los órganos y torsión hepática, siendo esta última la posible causa de muerte (Cullen & Stalker, 2016; Ritzman, 2014; Zachary, 2017).

La torsión hepática es una patología que, si bien no ha sido reportada previamente en anfibios, ha sido observada en lagomorfos, equinos, caninos y felinos. En estas especies, la torsión hepática se ha visto asociada a cambios hemodinámicos severos que conducen a un choque maldistributivo agudo con posterior muerte en ausencia de tratamiento. Es por esta razón, que en este espécimen pudo haber ocurrido un proceso similar que hizo que el individuo muriera 4 días después de la presentación de la fractura (Cullen & Stalker, 2016; Ritzman, 2014).

En el caso del individuo 3305 se encontró atrofia serosa de la grasa y reabsorción ósea. Este hallazgo denota la presencia de un proceso de anorexia crónica que de igual forma pudo haber agravado la inmunosupresión previamente mencionada y haber exacerbado la presentación del proceso infeccioso que finalmente condujo al individuo a la muerte (Zachary, 2017).

#### **4.2.7. Posible mecanismo de muerte de los individuos *A. limosus***

La especie *A. limosus* es una especie que naturalmente habita de los 10 a los 730 msnm (Ibáñez et al., 1995). Como ya se mencionó previamente, la Balsa de los Sapos se encuentra localizada en la ciudad de Quito la cual a su vez se encuentra localizada a 2850 msnm, lo que significa que dentro del centro de conservación existe una menor presión parcial de oxígeno ( $PO_2$ ) en comparación con la  $PO_2$  presente en los hábitats naturales de *A. limosus* (Carod-Artal, 2014).

La disminución en la  $PO_2$  disponible a nivel ambiental es una alteración que es detectada por los barorreceptores del cuerpo carotídeo, los cuales tratan de elevar los niveles de  $O_2$  disponible para los tejidos aumentando el flujo sanguíneo mediante mecanismos neurohumorales como la inhibición de la hormona antidiurética (ADH) y la disminución del flujo sanguíneo a los riñones (Afsar et al., 2016; Carod-Artal, 2014; Zachary, 2017).

Todos los cambios hemodinámicos mencionados generan un aumento en la presión hidrostática con consecuente edema generalizado acompañado de un incremento en el volumen de sangre que debe ser bombeado por el corazón y aumento del volumen diastólico. Si estas lesiones persisten con el tiempo el corazón en respuesta generará un aumento en el tamaño de las cámaras en respuesta a la hiperextensión de los cardiomiocitos durante la diástole que supera la longitud óptima de las fibras, lo que eventualmente genera mediante la Ley de Starling pérdida de la capacidad de contracción y cardiomiopatía congestiva (Afsar et al., 2016; Zachary, 2017).

La cardiomiopatía congestiva implica que exista una falla miocárdica y defectos en el bombeo de la sangre, por lo que se disminuye el vaciamiento de la sangre venosa en los tejidos produciéndose congestión y menor oxigenación de las células con consecuente necrosis y posterior formación de tejido fibroso ante intentos fallidos de reparación del tejido (Afsar et al., 2016; Zachary, 2017).

Otra grave consecuencia de un menor volumen sistólico es la generación de hipertensión venosa e hipotensión arterial acompañada de un estado de hipervolemia que reduce el flujo de excreción de fluido y sales a nivel renal provocando una acumulación de sodio. Adicionalmente, la baja presión arterial en el riñón provoca una activación del sistema nervioso simpático y del eje renina-angiotensina-aldosterona, los cuales producen vasoconstricción arteriolar, la cual empeora la hipernatremia y provoca un menor filtrado glomerular. Estas alteraciones finalmente generan insuficiencia renal con daño glomerular (Afsar et al., 2016).

La insuficiencia renal a su vez genera azotemia y proteinuria. La elevación de los niveles de urea en sangre puede provocar una endocarditis ulcerativa con hemorragia y fibrosis valvular la cual puede o no ir acompañada de miocarditis. Los hallazgos encontrados en estos individuos (cardiomiopatía congestiva, edema generalizado, congestión generalizada, fibrosis, riñón terminal y hemorragia valvular) son compatibles con este tipo de alteración (Zachary, 2017).

Otro proceso patológico observado en los presentes individuos fue la presencia de lipidosis hepática y cálculos biliares, los cuales se originaron muy probablemente por una dieta elevada en colesterol como se observó en los individuos *E. tricolor* (Greenberger & Paumgartner, 2016; Segovia & Cuenca, 2013).

Los múltiples hallazgos sugerentes a procesos infecciosos (micosis subcutánea, glomerulonefritis membranoproliferativa, glomerulonefritis proliferativa, neumonía proliferativa y exudativa) muy probablemente se debieron a una inmunosupresión ocasionada por la edad de los individuos y por las alteraciones sistémicas presentes (Zachary, 2017).

La neoplasia hallada en el individuo 2889 muy probablemente pudo haber empeorado la afección sistémica observada, sin embargo, debido a la ausencia de signos de metástasis no es considerada la causa primaria de muerte (Cianciolo & Mohr, 2016).

#### **4.2.8. Posible mecanismo de muerte del individuo *Gastrotheca* spp.**

El riñón terminal es un conjunto de alteraciones patológicas que ocurren en la fase final de una insuficiencia renal crónica. En este individuo se encontró a nivel renal todos los hallazgos compatibles con un riñón terminal (fibrosis, mineralización, esclerosis glomerular, focos con túbulos hiperplásicos e hipertróficos), demostrando que este individuo sufrió una insuficiencia renal crónica letal (Zachary, 2017).

Al existir una insuficiencia renal se produce una pérdida de gran cantidad de nefronas, por lo que las nefronas que aún son funcionales reciben una mayor cantidad de sangre por hipertensión glomerular aumentando a su vez su tasa de filtración glomerular. Si la insuficiencia renal continúa esta hiperfiltración glomerular finalmente provoca que los glomérulos pierdan funcionalidad e inicien un proceso de proteinuria. Al existir una excesiva filtración de proteínas hacia el espacio de los túbulos proximales estos secretan endotelina-1 (ET-1), una hormona que produce fuerte vasoconstricción con aumento de la presión intravascular que finalmente lleva a una hipertensión sistémica con aumento del volumen de sangre que debe ser bombeado por el corazón (Remuzzi, Perico, Macia, & Ruggenti, 2005).

Al aumentar el volumen de sangre que entra al corazón este finalmente mediante los mecanismos explicados previamente para los individuos *A. limosus*, se desarrolla una hipertrofia cardíaca excéntrica con insuficiencia cardíaca, lo cual eventualmente conduce a un edema generalizado, el cual es agravado por una disminución de la presión oncótica provocado por la proteinuria. El edema observado en el individuo analizado era sumamente severo a nivel subcutáneo provocando que el animal no pueda desplazarse (Afsar et al., 2016; Zachary, 2017).

La falta de movilidad en el presente individuo con el paso del tiempo generó una atrofia muscular crónica por desuso y una falta de oxigenación por compresión crónica de la piel, sobre todo sobre las prominencias óseas. Esta hipoxia tisular finalmente generó necrosis y úlcera por presión crónica, la cual con el tiempo permitió la infiltración de hongos oportunistas y se transformó en un carcinoma como el observado en el individuo analizado (Lass-Flörl & Mayr, 2007; Peterson & Sardi, 2004; Zachary, 2017).

El proceso patológico explicado anteriormente posiblemente desencadenó un choque cardiogénico por la falla cardíaca congestiva y finalmente la muerte (Zachary, 2017).

A pesar de que el mecanismo explicado anteriormente permite determinar cómo ocurrió la muerte del presente individuo, el origen de la enfermedad renal observada no pudo ser determinado mediante la evaluación histopatológica. Sin embargo, la presencia de glomerulonefritis proliferativa y membranoproliferativa acompañada de ausencia de exposición a agentes tóxicos es altamente sugerente de un proceso infeccioso (Pessier, 2009; Zachary, 2017).

#### **4.2.9. Posible mecanismo de muerte del individuo *C. mariaeleanae***

La especie *C. mariaeleanae* habita normalmente a una altura de 1400 a 1820 msnm (Guayasamín et al., 2017) y al igual que en los individuos *A. limosus* en este individuo probablemente se desarrolló una insuficiencia cardiaca congestiva en respuesta a la hipoxia ambiental. Sin embargo, en este individuo el daño hepático producido por la congestión fue mucho más severa llegando a provocar una cirrosis hepática (Carod-Artal, 2014; Zachary, 2017).

El mecanismo de cirrosis hepática por congestión crónica inicia con la formación de fibrosis perivascular que rodea a las venas centrales del lobulillo, la cual se forma como un mecanismo de respuesta frente al aumento de la presión venosa. La fibrosis con el tiempo se extiende formando puentes entre las venas centrales. Esta fibrosis impide que el hígado cumpla con sus funciones de manera normal por lo que en respuesta el órgano trata de regenerarse formando nódulos. En conjunto la fibrosis hepática, los nódulos de regeneración y la heterogeneidad del parénquima conforman un hígado cirrótico y terminal (Zachary, 2017).

La muerte en este individuo muy probablemente también se produjo debido a un choque cardiogénico como ocurrió en los individuos *A. limosus*.

#### **4.2.10. Posible mecanismo de muerte del individuo *P. laticlavus***

La cardiomiopatía hipertrófica excéntrica es una enfermedad ampliamente documentada en las distintas especies animales. Se han estipulado principalmente siete causas para esta alteración, la primera es una enfermedad

de la arteria coronaria, la segunda es una enfermedad valvular, la tercera es la hipertensión sistémica, la cuarta son infecciones sistémicas, la quinta es la deficiencia de vitamina B1, la sexta es una taquicardia sostenida originada por diversos procesos patológicos y la séptima es el estrés (Weigner & Morgan, 2018; Zachary, 2017).

En el individuo estudiado no se encontraron otros hallazgos que permitan sospechar de una posible infección sistémica (se encontró únicamente bronquiolitis, empero otros signos de enfermedad sistémica como endocarditis o alteraciones inflamatorias en otros órganos no fueron hallados). Sin embargo, El resto de los hallazgos que fueron observados en este individuo (miopatía polifásica por esfuerzo con rabdomiólisis, necrosis y proteinuria) son signos que permiten conocer que el individuo analizado fue sometido a estrés. El estrés presentado muy posiblemente se originó por su captura (la cual ocurrió dos meses previos a su deceso) y posterior confinamiento en solitario. Estas dos condiciones mencionadas pueden provocar la muerte en animales silvestres mantenidos en cautiverio por dos procesos, el primero es la cardiomiopatía por captura y el segundo es el estrés crónico (Balm, 2000; Miller & Fowler, 2015; Zachary, 2017).

En el individuo estudiado, si bien se encontraron signos compatibles con cardiomiopatía por captura (rabdomiólisis, enfermedad cardíaca y proteinuria), el tiempo transcurrido entre su captura y su muerte excede a cualquier tipo de cardiomiopatía por captura reportado previamente, la cual se ha reportado únicamente hasta 30 días posterior a la captura. Adicionalmente, existen múltiples lesiones que permiten sospechar que este individuo se encontraba iniciando una fase de estrés crónico como la hipertrofia cardíaca excéntrica y un posible cuadro de inmunosupresión que permitió que este individuo desarrollara bronquiolitis (Balm, 2000; Miller & Fowler, 2015).

Es por estas razones que el posible mecanismo por el cual el animal murió inicia con la exposición del individuo a los dos agentes estresores mencionados

anteriormente, estos agentes estimulan al hipotálamo a liberar hormona liberadora de corticotropina (HLC), la cual estimula a la hipófisis anterior a liberar hormona adrenocorticotrópica (ACTH) encargada de estimular al tejido adrenal para liberar catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) quienes activan el sistema nervioso autónomo simpático (SNAs). El SNAs al ser activado produce múltiples efectos en el organismo, entre ellos se encuentran la inhibición las funciones digestivas (provocando anorexia), gluconeogénesis (con aumento de la energía disponible y consecuentes intentos de huida, los cuales pueden generar un sobre esfuerzo con activación del metabolismo anaeróbico, liberación de ácido láctico y rabiomólisis), dilatación bronquial (siendo este el posible origen de la bronquiolitis observada al combinarse con inmunosupresión) y taquicardia. La rabiomólisis previamente mencionada a su vez puede provocar liberación de mioglobina, la cual al llegar a los riñones puede producir nefrotoxicidad. Es importante recalcar que si bien el proceso observado en este individuo es muy similar al de una miopatía por captura, la anamnesis de este individuo permite identificar que el animal sufrió de un cuadro de estrés que pudo haber provocado que tenga múltiples intentos de fuga del recipiente en el que se lo mantuvo, siendo esta la verdadera razón de las alteraciones observadas y no directamente su captura (Balm, 2000; Golbidi, Frisbee, & Laher, 2015).

Al existir un estrés crónico la hormona ACTH permitirá la liberación de cortisol y cortisona a través de la estimulación de las células fasciculadas adrenales, las cuales generarán migración de leucocitos, liberación de sustancias inflamatorias vasodilatadoras con consecuente aumento de la permeabilidad vascular y una mayor movilización de ácidos grasos (con consecuente lipidosis hepática, la cual a su vez puede provocar acúmulo de triglicéridos con colestasis y dilatación de la pared de la vesícula) (Balm, 2000; Miller & Fowler, 2015).

Este daño crónico también puede producir aterosclerosis coronaria por liberación de interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y liberación de  $\beta$ -tromboglobina. A su vez, la aterosclerosis desencadena un menor flujo coronario, el cual origina isquemia del miocardio ventricular con

consecuente desestabilización de la membrana de los miocitos con posterior arritmia y taquicardia empeorada con la liberación de la epinefrina (Golbidi et al., 2015).

Todos estos cambios pueden originar una hipertrofia cardíaca excéntrica por ley de Starling con elongación de las fibras musculares y finalmente una falla multiorgánica por hipertensión portal la cual sumada a un choque cardiogénico puede producir la muerte (Zachary, 2017).

## 5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

En conclusión, las lesiones anatomopatológicas e histopatológicas observadas determinaron que la mayor parte de los anfibios originarios de la serranía ecuatoriana murieron de procesos infecciosos desarrollados a partir de un manejo inadecuado, lo que permitió que los animales presentaran estrés crónico con la proliferación de agentes infecciosos que finalmente desarrollaron un proceso séptico.

En el caso de las especies *A. limosus* y *C. mariaelena* cuyo hábitat natural se localiza en pisos altitudinales bajos se observaron lesiones relacionadas insuficiencia cardíaca como consecuencia de la hipoxia ambiental existente, la cual dio paso a una falla multiorgánica que con la cronicidad acabó generando la muerte de los individuos estudiados.

### 5.2. Recomendaciones

Se recomienda que en el centro de conservación se comience a dar un manejo que considere las necesidades específicas de cada especie para reducir el estrés y consecuentemente mejorar el rendimiento reproductivo de los animales. Adicionalmente, en las especies que provienen de un piso altitudinal similar al encontrado en Quito se deberán manejar protocolos de bioseguridad más estrictos, en los cual se establezcan vacíos sanitarios y sistemas de limpieza adecuados que prevengan la presentación de enfermedades infecciosas. Esto deberá realizarse con asesoría de personal veterinario especializado con amplios conocimientos en medicina preventiva.

En aquellos animales que provienen de nichos ecológicos localizados en zonas cercanas al nivel del mar se debe considerar que la hipoxia ambiental es un factor que no puede ser controlado, por lo que se sugiere que se construya una sucursal del centro de conservación localizado lo más cerca posible de los hábitats naturales de estas especies.

## REFERENCIAS

- Afsar, B., Ortiz, A., Covic, A., Solak, Y., Goldsmith, D., & Kanbay, M. (2016). Focus on renal congestion in heart failure. *Clinical Kidney Journal*, 9(1), 39-47. doi: 10.1093/ckj/sfv124
- Alguire, P., & Mathes, B. (2018). Pathophysiology of chronic venous disease. Retrieved 08/05/2018, from [https://www.uptodate.com/contents/pathophysiology-of-chronic-venous-disease?search=chronic%20valvular%20insufficiency&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/pathophysiology-of-chronic-venous-disease?search=chronic%20valvular%20insufficiency&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1)
- Baker, D. (2008). *Flynn's Parasites of Laboratory Animals* (2a edición ed.). Ames, EEUU: Blackwell Publishing.
- Balm, P. (2000). *Stress Physiology in Animals*. Hoboken, EEUU: Blackwell.
- Bradley-Siemens, N., & Reisman, R. (2018). Neglect. In J. Brooks (Ed.), *Veterinary Forensic Pathology* (Vol. 2, pp. 37-66). Cham, Suiza: Springer Nature.
- Cabrera-Guzmán, E., Crossland, M., Brown, G., & Shine, R. (2013). Larger Body Size at Metamorphosis Enhances Survival, Growth and Performance of Young Cane Toads (*Rhinella marina*). *PLOS ONE*, 8(7), e70121. doi: 10.1371/journal.pone.0070121
- Carod-Artal, F. J. (2014). Cefalea de elevada altitud y mal de altura. *Neurología*, 29(9), 533-540. doi: 10.1016/j.nrl.2012.04.015
- Caswell, J. L., & Williams, K. J. (2016). Chapter 5 - Respiratory System A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2 (Sixth Edition)* (pp. 465-591.e464): W.B. Saunders.
- Cianciolo, R. E., & Mohr, F. C. (2016). Chapter 4 - Urinary System A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2 (Sixth Edition)* (pp. 376-464.e371): W.B. Saunders.
- Claver, J., & Quaglia, A. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2), 87-97. doi: 10.1053/j.jepm.2009.04.006
- Coloma, L. A., Frenkel, C. y Ortiz, D. A. . (2017). Epipedobates tricolor Retrieved 28/08/2018, from

- <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Epipedobates%20tricolor>
- Coloma, L. A., Frenkel, C. y Ron, S. R. . ( 2017). Anfibios del Ecuador. *Epipedobates anthonyi*. Retrieved 27/04/2018, from <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Epipedobates%20anthonyi>
- Collins, J., Crump, M., & Lovejoy III, T. (2009). *Extinction in Our Times: Global Amphibian Decline*. Nueva York, EEUU: Oxford University Press.
- Constitución del Ecuador, Art. 71-74 C.F.R. (2008).
- Craig, L. E., Dittmer, K. E., & Thompson, K. G. (2016). Chapter 2 - Bones and Joints A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1 (Sixth Edition)* (pp. 16-163.e161): W.B. Saunders.
- Crawshaw, G., & Weinkle, T. (2000). Clinical and pathological aspects of the amphibian liver. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 9(3), 165-173. doi: 10.1053/ax.2000.7133
- Cullen, J., & Stalker, M. (2016). Chapter 2 - Liver and Biliary System A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2 (Sixth Edition)* (pp. 258-352.e251): W.B. Saunders.
- Chen, H., Dou, Y., Zheng, X., Tang, Y., Zhang, M., Zhang, Y., . . . Diao, Y. (2017). Hydropericardium Hepatitis Syndrome Emerged in Cherry Valley Ducks in China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(4), 1262-1267. doi: doi:10.1111/tbed.12500
- Chou, C. Y., Huang, Z. Y., Chiao, H. Y., Wang, C. Y., Sun, Y. S., Chen, S. G., . . . Chang, S. C. (2015). Squamous cell carcinoma arising from a recurrent ischial pressure ulcer: a case report. *Ostomy Wound Manage*, 61(2), 48-50.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protoc*, 2008, pdb.prot4986. doi: 10.1101/pdb.prot4986
- Forzan, M. J., Smith, T. G., Vanderstichel, R. V., Hogan, N. S., & Gilroy, C. V. (2016). Hematologic reference intervals for *Rana sylvatica* (Lithobates

- sylvaticus) and effect of infection with Frog Virus 3 (Ranavirus sp., Iridoviridae). *Vet Clin Pathol*, 45(3), 430-443. doi: 10.1111/vcp.12393
- Frankham, R. (2008). Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, 17(1), 325-333. doi: doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03399.x
- Frye, F. L. (2015). *Reptiles and Amphibians: Self-Assessment Color Review, Second Edition*. Boca Raton, EEUU: CRC Press.
- Golbidi, S., Frisbee, J., & Laher, I. (2015). Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 308(12), H1476-H1498. doi: 10.1152/ajpheart.00859.2014
- Greenberger, N., & Paumgartner, G. (2016). Enfermedades de la vesícula biliar y las vías biliares In D. Kasper, S. Hauser, J. Jameson, A. Fauci, D. Longo & J. Loscalzo (Eds.), *Harrison Principios de Medicina Interna* (Vol. 2). México D.F., México: McGrawHill.
- Guayasamín, J. M., Frenkel, C., Varela-Jaramillo, A., & Cisneros-Heredia, D. F. (2017). *Chimerella mariaelenae* (Eds). *Anfibios del Ecuador. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador., Version 2018.0*.
- Guayasamin, J. M., Varela-Jaramillo, A., C., F., & Pazmiño-Armijos, G. (2016. ). *Espadarana callistomma* Retrieved 28/04/2018, from <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Espadarana%20callistomma>
- Hartigan, A., Fiala, I., Dyková, I., Jirků, M., Okimoto, B., Rose, K., . . . Šlapeta, J. (2011). A Suspected Parasite Spill-Back of Two Novel Myxidium spp. (Myxosporea) Causing Disease in Australian Endemic Frogs Found in the Invasive Cane Toad. *PLOS ONE*, 6(4), e18871. doi: 10.1371/journal.pone.0018871
- Harvey, F. (2007). Amphibian Biology and Husbandry. *ILAR Journal*, 48(3), 203-213. doi: 10.1093/ilar.48.3.203
- Hewison, M. (2011). Vitamin D and immune function: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(1), 50-61. doi: 10.1017/S0029665111001650

- Hodgson, P., Aich, P., Stookey, J., Popowych, Y., Potter, A., Babiuk, L., & Griebel, P. (2012). Stress significantly increases mortality following a secondary bacterial respiratory infection. *Veterinary Research*, 43(1), 21-21. doi: 10.1186/1297-9716-43-21
- Ibáñez, R. D., Jaramillo, C. A., & Solís, F. A. (1995). "Una especie nueva de *Atelopus* (Amphibia: Bufonidae) de Panama.". *Caribbean Journal of Science*, 31(1-2), 57-64.
- Isidoro-Ayza, M., Lorch, M., Grear, A., Winzeler, M., Calhoun, D., & Barichivich, W. (2017). Pathogenic lineage of *Perkinsea* associated with mass mortality of frogs across the United States. *Scientific Reports*, 7(1), 10288. doi: 10.1038/s41598-017-10456-1
- IUCN, & ASG. (2005). Amphibian Conservation Action Plan. Retrieved 27/08/2017, from [www.amphibianark.org/pdf/ACAP.pdf](http://www.amphibianark.org/pdf/ACAP.pdf)
- IUCN, ASG, & ASA. (2015). Amphibian Conservation Plan. Retrieved 27/08/2017, from <http://www.amphibians.org/publications/amphibian-conservation-action-plan/>
- Jones, M. W., & Ferguson, T. (2017). Gallbladder, Cholecystitis, Chronic. Retrieved 27/04/2018, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470236/>
- Khaled, A., & Yosef, U. (2016). Chapter 44 - Acute Rheumatic Fever and Poststreptococcal Reactive Arthritis A2 - Petty, Ross E. In R. M. Laxer, C. B. Lindsley & L. R. Wedderburn (Eds.), *Textbook of Pediatric Rheumatology (Seventh Edition)* (pp. 571-585.e574). Philadelphia: W.B. Saunders.
- 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. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2010.05.007>
- Lass-Flörl, C., & Mayr, A. (2007). Human Protothecosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 230-242. doi: 10.1128/CMR.00032-06
- Litster, A., Straw, R., Rose, A., & Turner, S. (2002). Feline Hepatic Lipidosis. *Australian Veterinary Practitioner*, 32, 225-269. doi: 10.1016/j.cvsm.2004.10.002

- MAE. (2015). *Quinto informe nacional para el convenio sobre la biodiversidad biológica*. Quito, Ecuador: Ministerio del Ambiente Recuperado de <https://www.cbd.int/doc/world/ec/ec-nr-05-es.pdf>.
- Mauldin, E. A., & Peters-Kennedy, J. (2016). Chapter 6 - Integumentary System A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1 (Sixth Edition)* (pp. 509-736.e501): W.B. Saunders.
- Miller, D. (2014). Chapter 24 - Ranavirus A2 - Mader, Douglas R. In S. J. Divers (Ed.), *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (pp. 277-280). St. Louis: W.B. Saunders.
- Miller, E., & Fowler, M. (2015). *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine* (Vol. 8). St. Louis, EEUU.: Elsevier Saunders.
- Mitchell, M. A., & Tully, T. N. (2016). *Current Therapy in Exotic Pet Practice*. St. Louis, EEUU: Elsevier.
- Montali, R. J. (2004). *Lista de causa de mortis*. In J. L. Catão-Dias (Ed.), *Minicurso Patologia Comparada de Animais Silvestres no VIII Congresso e XIII Encontro da Associação Brasileira de Médicos Veterinários de Animais Selvagens*.
- Nichols, D. (2000). Amphibian Respiratory Diseases. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice*, 3, 551-554, ix. doi: 10.1016/S1094-9194(17)30089-0
- O'Rourke, D., & Rosenbaum, M. (2015). *Biology and Diseases of Amphibians*.
- Ortiz, D. A., Coloma, L. A., & Frenkel, C. (2018). *Hyloxalus nexipus*. Retrieved 28/04/2018., 2018.0., , from <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Hyloxalus%20nexipus>
- Pessier, A. P. (2002). An overview of amphibian skin disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11(3), 162-174. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/saep.2002.123980>
- Pessier, A. P. (2009). Edematous Frogs, Urinary Tract Disease, and Disorders of Fluid Balance in Amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(1), 4-13. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.jepm.2008.10.003>

- Pessier, A. P. (2014). Chapter 21 - Infectious Diseases of Amphibians: It Isn't Just Redleg Anymore A2 - Mader, Douglas R. In S. J. Divers (Ed.), *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (pp. 247-254). St. Louis: W.B. Saunders.
- Pessier, A. P. (2014). Chapter 23 - Short Tongue Syndrome and Hypovitaminosis A A2 - Mader, Douglas R. In S. J. Divers (Ed.), *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (pp. 271-276). St. Louis: W.B. Saunders.
- Peterson, R., & Sardi, A. (2004). Hemicorporectomy for chronic pressure ulcer carcinoma: 7 years of follow-up. *Am Surg*, *70*(6), 507-511.
- PUCE. (2005). ¿Quiénes Somos? Retrieved 01/03/2017, from <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/BalsaSapos/Justificacion.aspx>
- Remuzzi, G., Perico, N., Macia, M., & Ruggenti, P. (2005). The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*(99), S57-65. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.09911.x
- Rishniw, M., & Carmel, B. (1999). Atrioventricular valvular insufficiency and congestive heart failure in a carpet python. *Australian Veterinary Journal*, *77*(9), 580-583. doi:10.1111/j.1751-0813.1999.tb13193.x
- Ritzman, T. K. (2014). *Gastroenterology, An Issue of Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. Pennsylvania, EEUU: Elsevier Health Sciences.
- Robinson, W. F., & Robinson, N. A. (2016). Chapter 1 - Cardiovascular System A2 - Maxie, M. Grant *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 3 (Sixth Edition)* (pp. 1-101.e101): W.B. Saunders.
- Rosenthal, K. L., Forbes, N., Frye, F. L., & Lewbart, G. A. (2008). *Rapid Review of Exotic Animal Medicine and Husbandry: Pet Mammals, Birds, Reptiles, Amphibians and Fish*. Boca Raton, EEUU: CRC Press.
- Sarasola-Puente, V., Gosa, A., Oromi, N., Madeira, M. J., & Lizana, M. (2011). Growth, size and age at maturity of the agile frog (*Rana dalmatina*) in an Iberian Peninsula population. *Zoology (Jena)*, *114*(3), 150-154. doi: 10.1016/j.zool.2010.11.009

- Schilliger, L., Chetboul, V., Damoiseaux, C., & Nicolier, A. (2016). Restrictive cardiomyopathy and secondary congestive heart failure in a Mcdowell's carpet python (*Morelia spilota mcdowelli*). *J Zoo Wildl Med*, 47(4), 1101-1104. doi: 10.1638/2016-0076.1
- Segovia, H., & Cuenca, O. (2013). Prevalencia y secuencia metaplasia-displasia-carcinoma de vesícula biliar. Estudio retrospectivo unicéntrico. *Cirugía Española*, 91(10), 672-675. doi: 10.1016/j.ciresp.2012.10.005
- SENPLADES. (2013). *Plan Nacional del Buen Vivir*. Quito, Ecuador: SENPLADES Recuperado de [www.buenvivir.gob.ec](http://www.buenvivir.gob.ec).
- Shimbo, K., Yokota, K., Miyamoto, J., Okuhara, Y., & Ochi, M. (2015). Symmetrical peripheral gangrene caused by septic shock. *Case Reports in Plastic Surgery & Hand Surgery*, 2(3-4), 53-56. doi: 10.3109/23320885.2015.1041529
- Silen, W., & Forte, J. G. (2000). Effects of bile salts on amphibian gastric mucosa. *Am J Physiol*, 228(2), 637-644. doi: 10.1152/ajplegacy.1975.228.2.637
- Sinsch, U., & Dehling, J. (2017). Tropical anurans mature early and die young: Evidence from eight Afrotropical Hyperolius species and a meta-analysis. *PLOS ONE*, 12(2), e0171666. doi: 10.1371/journal.pone.0171666
- Tizard, I. (2009). *Introducción a la Inmunología Veterinaria* (8a edición ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- UDLA. (2015). Plan estratégico 2015-2019. from [http://udla.edu.ec/ebooks/plan\\_estrategico2015-2019/](http://udla.edu.ec/ebooks/plan_estrategico2015-2019/)
- Vannevel, J. Y. (2006). Glomerulonephritis and anasarca in a colony of frogs. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 9(3), 609-616. doi: 10.1016/j.cvex.2006.05.034
- Villarrubia, V. G., & Navarro, S. R. (2000). Inmunopatogenia del envejecimiento: el deterioro de la inmunidad innata y su repercusión sobre la inmunidad específica. Restauración por AM3. *Revista Española de Geriátria y Gerontología*, 35(1), 30-42.
- Weigner, M., & Morgan, J. (2018). Causes of dilated cardiomyopathy. *Uptodate*, 20.0, 3516.

- Wright, K., & Whitaker, B. (2001). *Amphibian medicine and captive husbandry*. Malabar, EEUU: Krieger Publishing Company.
- Zachary, J. (2017). *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (6a edición ed.). Illinois, EEUU: Mosby.

**ANEXOS**

## ANEXO 1. FORMATO DE HISTORIA CLÍNICA

Procedencia			
Especie:		Sexo:	
Identificación:			
Nacido en cautiverio:	SI	NO	Lugar de captura:
Capturado	SI	NO	
Tipo de terrario:		Tamaño de terrario:	
Tipo de suelo y plantas presentes:			
Fuente de agua:		Iluminación:	
Fuente de humedad:			
% de humedad:			
Método para control de temperatura:			
Temperatura interna		Temperatura externa	
Sexo de compañeros del terrario		Nº de compañeros de terrario	
Frecuencia de limpieza de los terrarios:			
Nº y especies de animales en medios cercanos			
Método de limpieza y productos usados:			
Tipo de alimento administrado:			
Frecuencia de administración de alimento:			
Cantidad de alimento administrado:			
Cantidad de alimento consumido:			
Lugar de adquisición del alimento:			

Cambios en la alimentación:	
Cambios en el entorno:	
Signos observados previos al deceso:	
Duración de los signos observados previos al deceso:	
Observaciones adicionales:	

## ANEXO 2. FORMATO DE INFORME DE NECROPSIA

<b>Informe de necropsia</b>			
Encargado de necropsia:		Especie:	
Longitud rostro-cloacal:		Identificación:	
Sexo:		Peso:	
Fecha de muerte:		Fecha de necropsia:	
Estado de conservación:	1-2-3-4-5	Lugar de hallazgo:	
Circunferencia celómica:		Largo extremidades anteriores:	
Largo extremidades posteriores:		Medidas adicionales:	
<b>Hallazgos macroscópicos</b>			
_____			
_____			
_____			
<b>Examen general</b>			

Condición física:

---

---

---

---

---

Reservas de grasa:		Orificios corporales:	
--------------------	--	-----------------------	--

Piel:

---

---

---

---

**Sistema músculo-esquelético**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema respiratorio**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema cardiovascular**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema digestivo**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Bazo**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema urinario**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema reproductor**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema endócrino**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Sistema nervioso**

---

<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
<b>Órganos de los sentidos</b>
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
<b>Observaciones adicionales</b>
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>

**ANEXO 3. CHECKLIST**

<b>Checklist de tejidos para necropsia</b>	
<p><b>Nota:</b> Todas las muestras colectadas para histopatología deberán ser conservadas en formalina tamponada al 10% en una proporción de 1 parte de tejido por 10 partes de solución. Las muestras no deberán tener un ancho mayor a 1 cm (Wright et al, 2001).</p>	
<p><b>Encierre en un círculo las muestras de las que se tomarán muestra e incluya observaciones adicionales</b></p>	
<b>Muestra</b>	<b>Observaciones</b>
Aorta	
Bazo	
Cerebro	
Cloaca	
Colon	
Corazón	
Esófago	
Estómago	
Gónadas	
Hígado	

Huesos	o
ligamentos	
Intestino delgado	
Laringe y tráquea	
Lengua	
Músculos	
Nervios	
Ojos	
Oviducto	
Páncreas	
Piel	
Pulmones	
Riñones	
Vejiga	
Vesícula biliar	
Otros	

#### ANEXO 4. MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DE CADA INDIVIDUO

Especie	Individuo	Longitud rostro-cloacal (cm)	Circunferencia celómica (cm)	Peso
	3870	3,1	3,5	2,1
<i>Espadarana callistomma</i>	3305(1)	3,5	1	1,4
	3305	3,5	1	1,73
	3392(1)	2,2	3,1	0,73
	3392(2)	2,2	2,8	0,62
<i>Epipedobates tricolor</i>	3422	2,5	2,2	0,65
	3502	2,4	2,2	1,31
	3566(1)	2,7	2,7	0,62
	3566(2)	2,9	2,7	0,83
	2862	4,8	6,1	6,6
<i>Atelopus limosus</i>	3138	4,5	3,9	5,9
	2889	4,5	4,2	5,8
	3461	2,5	3,9	1,03
<i>Hyloxalus nexipus</i>	4091(1)	2,2	3	1,47
	4091(2)	1,15	2,7	0,83
	3460(3)	3,4	3,7	1,4
	3061 (2)	2,2	3,1	1,17

---

<i>Pristimantis laticlavus</i>	4266	2	1	0,41
<i>Gastrotheca spp.</i>	887	5,5	7	17,8
<i>Chimerella mariaelenae</i>	3443	2,2	2,5	0,4

---

