



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA MEDIANTE UN ANÁLISIS
COPROLÓGICO EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE *Gastrotheca litonedis*,
MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN LA Balsa de los Saños

Autora

María José Herrera Morales

Año
2018



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA MEDIANTE UN ANÁLISIS
COPROLÓGICO EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE *Gastrotheca litonedis*,
MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN LA Balsa DE LOS SAPOS

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

Profesor guía

Mv. MSc. Ph. D. Sc. Alexander Genoy-Puerto

Autora

María José Herrera Morales

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA MEDIANTE UN ANÁLISIS COPROLÓGICO EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE *Gastrotheca litonedis*, MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN LA Balsa de los Saños, a través de reuniones periódicas con el estudiante María José Herrera Morales, 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 en que regulan los Trabajos de Titulación”.

Elmer Alexander Genoy-Puerto
MV. MSc. PhD.
C.I. 1757589278

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA MEDIANTE UN ANÁLISIS COPROLÓGICO EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE *Gastrotheca litonedis*, MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN LA Balsa de los Saños, del estudiante María José Herrera Morales, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes en que regulan los Trabajos de Titulación”

Dr. Juan José Pesántez Valdivieso
Médico Veterinario Zootecnista
C.I. 1716395791

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

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

María José Herrera Morales
C.I. 171715073-2

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mi familia, por ser un pilar importante en mi vida y apoyarme muchísimo para culminar esta carrera, a la Universidad de las Américas, a mi guía de tesis por encaminarme en este proceso, a la Balsa de los Sapos por preservar esta especie de anfibio y ser un soporte importante para ejecutar este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres y a mis hermanos por confiar en mí, a mi abuela por darme esos consejos cuando los necesitaba, a mi abuelito quien me influenció a tener amor hacia los animales y pese a que ya no está conmigo, le dedico este trabajo.

A mis queridas primas y amigas por empujarme a seguir adelante cuando estaba por rendirme, y, por último, para todos esos animales que no tienen voz, pero con una mirada nos dicen todo, les entrego todo este esfuerzo.

RESUMEN

Una de las mayores amenazas globales para las poblaciones de anfibios es la pérdida de su hábitat, siendo el Ecuador unos de los países más afectados. El centro de crianza Balsa de los Sapos ha hecho esfuerzos por mantener su conservación. *Gastrotheca litonedis* es una de las especies ecuatorianas en peligro dentro de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional de la Conservación de la Naturaleza (UICN). Esta investigación con un total de 51 animales divididos en 23 hembras y 28 machos tuvo como objetivo principal determinar la carga parasitaria, para registrar y cuantificar los huevos de nematodos. Se realizó el método de flotación con solución saturada de azúcar, seguido de esto se hizo uso del método de McMaster para la cuantificación y la identificación de huevos utilizando las heces de la población total de animales. Como resultado se obtuvo una carga parasitaria de $2584 \pm 66,73$ de huevos por gramo de heces, con un rango entre 2216,00 – 2784,00 de huevos por gramo de heces. Además, se registraron las especies con mayor frecuencia de aparición y con sus respectivas mediciones. Entre las especies más frecuentes estuvieron: *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Strongyloides*, *Oswaldocruzia*, *Oxyascaris*, *Rhabdias*, *Pteroxyascaris*, *Falcaustra* y *Railletnema*. La carga parasitaria de estos animales en cautiverio alcanzaría a ser la normal dentro de las buenas prácticas de manejo del estado sanitario. Se determinó que las variables de peso, tamaños morfométricos y tiempo en cautiverio no dependen de la carga parasitaria. Este trabajo presenta las bases para proponer que se realice estudios en parasitología de anfibios implementando técnicas moleculares para corroborar si las especies que se identificaron pertenecen a las que están parasitando a la población de anfibios estudiados en esta tesis.

ABSTRACT

Habitat loss is one of the biggest threats to amphibian populations worldwide, being Ecuador one of the most affected countries. The amphibian breeding programme, Balsa de los Sapos, works towards the conservation of amphibians implementing ex-situ breeding in captivity projects. *Gasthroteca litonedis* is one of the endemic amphibians for Ecuador listed as endangered by the International Union for the Conservation of Nature (IUCN). The primary objective of this research was to determine the parasite load in a total of 51 animals of *Gasthroteca litonedis* (23 females, 28 males). The presence of Nematode eggs was also determined and quantified. The flotation method in a glucose saturated solution was used along with the McMaster method to quantify and identify eggs from amphibian faeces. As result the parasite load was of $2584 \pm 66,73$ eggs per fecal gram with a range of 2216,00 – 2784,00 eggs. Furthermore, the more frequent species observed were: *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Strongyloides*, *Oswaldocruzia*, *Oxyascaris*, *Rhabdias*, *Pteroxyascaris*, *Falcaustra* y *Railletnema*. Parasite load of captive amphibians was determined to be normal within the good sanitary handling practices. Animal weight, length or time in captivity were not related to the parasite load. This work presents the bases to propose that studies are carried out in amphibian parasitology implementing molecular techniques to corroborate the species that are identified as those that are stopping the population of amphibians studied in this thesis.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	3
2.1 Especie en estudio.....	3
2.2 Descripción física de la especie.....	3
2.3 Distribución y Población.....	3
2.4 Parasitismo en anfibios	4
2.5 Grupos parasitarios.....	6
2.5.1 Nemátodos.....	6
2.5.1.1 Desarrollo de los huevos.....	7
2.5.2 Protozoarios	8
2.5.2.1 Coccidiales.....	8
2.5.2.2 Ciliados y flagelados	8
2.5.3 Céstodos y tremátodos	8
2.5.4 Pentástomas	9
2.6 Diagnósticos parasitológicos	9
2.6.1 Método de Flotación.....	9
2.7 Técnica cuantitativa de McMaster.....	9
2.7.1 Muestreo por pool	10
3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1 Ubicación.....	11
3.2 Área de Estudio	11
3.3 Población y Muestra	12
3.4 Materiales.....	12
3.4.1 Mediciones morfométricas	12
3.4.2 Sexo.....	13

3.4.3	Tiempo en cautiverio	14
3.4.4	Colecta de muestras	14
3.4.5	Transporte de muestras	15
3.5	Análisis Coproparasitarios.....	15
3.5.1	Método de flotación	15
3.6	Método McMaster.....	17
3.7	Lectura de cámara de McMaster	18
3.7.1	Conteo de huevos.....	18
3.8	Análisis de datos.....	19
3.9	Diseño experimental	19
3.10	Hipótesis.....	19
3.10.1	H1.	19
3.11	Análisis estadístico.....	19
4.	CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1	Hallazgos de carga parasitaria.....	21
4.1.1	Tiempo en cautiverio	22
4.1.2	Largo recto boca-cloaca (LRBC).....	22
4.1.3	Peso de los animales	23
4.1.4	Carga parasitaria.....	23
4.2	Géneros de parásitos encontrados en <i>Gastrotheca</i> <i>litonedis</i>	23
4.3	Género <i>Cosmocerca</i>	28
4.4	Género <i>Falcaustra</i>	29
4.5	Género <i>Oswaldocruzia</i>	30
4.6	Género <i>Oxyascaris</i>	32
4.7	Género <i>Pteroxyascaris</i>	33
4.8	Género <i>Raillietnema</i>	35
4.9	Género <i>Rhabdias</i>	36
4.10	Género <i>Strongyloides</i>	38

4.11 Correlaciones y regresiones	39
4.11.1 Carga parasitaria y peso	40
4.11.2 Carga parasitaria y largo recto boca-cloaca.....	41
4.11.3 Carga parasitaria y tiempo en cautiverio	41
4.12 Limitaciones del estudio.....	43
5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y	
RECOMENDACIONES	44
5.1 Conclusiones	44
5.2 Recomendaciones.....	44
REFERENCIAS	46
ANEXOS	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa distribución de <i>Gastrotheca litonedis</i>	4
Figura 2. Distribución de parásitos comunes en anfibios.	5
Figura 3. Pool del total de muestras obtenidas.	12
Figura 4. Balanza digital con la cual se pesó a cada animal.	13
Figura 5. Calibrador Scala® con el cual se midió largo recto boca-cloaca.....	14
Figura 6. Las muestras se colocaron en cajas para muestras de heces.	15
Figura 7. Muestras con dilución de glucosa.	16
Figura 8. Suspensión fecal con dilución de glucosa.....	16
Figura 9. Muestra de heces con dilución de glucosa.....	17
Figura 10. Centrifuga para la mezcla a 1500 rpm	17
Figura 11. Microscopio preparado con cámara de McMaster con la muestra para medición de huevos y software	18
Figura 12. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Aplectana chamaeleonis</i> (55,79 μm x 40,31 μm). Identificación con lente 20x.	25
Figura 13. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Aplectana delirae</i> con (56,32 μm x 38,28 μm). Identificación con lente de 20x.....	26
Figura 14. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Aplectana hylambatis</i> (81,63 μm x 50,76 μm). Identificación con lente de 20x.	26
Figura 15. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Cosmocerca lessi</i> (94,33 μm x 63,56 μm). Huevo larvado. Identificación con lente 20x.	27
Figura 16. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Aplectana macintoshii</i> (95,89 μm x 52,48 μm). Se observa una larva completamente desarrollada. Identificación con lente 20x.	27
Figura 17. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Cosmocerca parva</i> (95,01 μm x 69,85 μm). Se evidencia un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	28
Figura 18. Huevo compatible por sus dimensiones la especie <i>Cosmocerca podicipinus</i> (93,04 μm y 63,26 μm). Se identifica un huevo morulado. También se observa un huevo compatible a la especie <i>Aplectana hylambatis</i> . Identificación con lente 20x.	29

Figura 19. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Falcaustra</i> mascula (53,36 μm y 38,58 μm). Se identifica un huevo larvado, también se observa un huevo que se asemeja al género <i>Strongyloide</i> . Identificación con lente 20x.....	30
Figura 20. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Oswaldocruzia lopesi</i> (82,24 μm y 50,31 μm). Se identifica un huevo larvado, identificación con lente 20x.....	31
Figura 21. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Oswaldocruzia mazzai</i> (88,03 μm x 55,08 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	31
Figura 22. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Oxyascaris caudacutus</i> (95,69 μm x 52,48 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x	32
Figura 23. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Oxyascaris oxyascaris</i> (79,09 μm x 59,79 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	33
Figura 24. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Pteroxyascaris caudacutus</i> (49,01 μm x 69,09 μm). Se identifica un huevo morulado, identificación con lente 20x	34
Figura 25. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Pteroxyascaris similis</i> (88,03 μm x 55,08 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	34
Figura 26. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Raillietnema spectans</i> (105,60 μm x 65,90 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	35
Figura 27. Larva que puede ser compatible al género <i>Rhabdias</i> sp. Identificación con lente 20x	37
Figura 28. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Rhabdias elegans</i> (95,69 μm x 52,48 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.	37

Figura 29. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie <i>Rhabdias fuelleborni</i> (105,60 μm x 65,90 μm). Se identifica un huevo larvado, identificación con lente 20x.	38
Figura 30. Huevo que se asemeja a <i>Strongyloides</i> con sus medidas (55,01 μm x 37, 42 μm). Se identifica un huevo larvado con pared delgada, Identificación con lente 20x	39
Figura 31. Regresión lineal entre variables, carga parasitaria y peso promedio de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.	40
Figura 32. Regresión lineal entre variables. Carga parasitaria y largo promedio boca-cloaca de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.....	41
Figura 33. Regresión lineal entre variables. Carga parasitaria y el tiempo promedio en cautiverio de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.....	42

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Los anfibios representan uno de los grupos de vertebrados más amenazados del planeta (Safi, Amour-Marshall, Baillie y Isaac, 2013). Se distribuyen mayormente en las regiones tropicales, el Ecuador es un país que cuenta con la concentración más variada de anfibios a nivel mundial con alrededor de 595 especies. Esta diversidad, en adición a su alta densidad de especies de anfibios por km². Sin embargo, Ecuador es uno de los países más afectados por las declinaciones y extinciones poblacionales de anfibios (Ron, Yanez-Muñoz, Merino-Viteri y Ortiz, 2018).

El proyecto Balsa de los Sapos, de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), es una de las propuestas existentes en el país para la conservación, crianza y reproducción en cautiverio de anfibios. Este proyecto enmarca un Plan Estratégico para la conservación de anfibios que están en riesgo. El cual, tiene como objetivo investigaciones y monitoreo de estas poblaciones con un manejo *ex situ*, siendo una herramienta de gran importancia para el país, dentro de las especies que está en peligro se encuentra *Gastrotheca spp.* Es por esta razón que se le ha dado prioridad para la conservación, investigación y posibles opciones de reintroducción (Ron et al., 2018).

El parasitismo en anfibios ha sido poco estudiado en Ecuador. Pocas han sido las investigaciones en cuanto a la diversidad de parásitos encontrados en las heces o estudios de carga parasitaria en base técnicas coprológicas. En Latinoamérica, la mayoría de investigaciones de parasitismo en anfibios se han enfocado en evidencias post-mortem por métodos de histopatología o tinciones. Estos estudios mencionan especialmente a tremátodos, nemátodos, bacterias, cestodos, protozoarios y criptosporidios (Reyes-Puig y Trujillo, 2016).

La especie *Gastrotheca litonedis*, es una especie de anfibio que habita en el Ecuador y según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) esta especie se encuentra En peligro (EN). A causa de pérdida de su

hábitat natural, a las alteraciones antropocéntricas, dando como resultado la principal amenaza a la conservación de esta especie (UICN, 2017).

Información sobre parásitos y carga parasitaria presentes en anfibios en cautiverio y en vida libre, es prácticamente inexistente en Ecuador. Esta información resulta de gran ayuda para profesionales veterinarios y biólogos para establecer el estado sanitario de las especies en cautiverio, y a su vez, esto ayudará que se dé más importancia en tema de conservación para centros dedicados a la crianza y conservación de estas especies.

Objetivos

1.1 Objetivo general

Determinación de la carga parasitaria mediante un análisis coprológico en anfibios de la especie *Gastrotheca litonedis*, mantenidos en cautiverio en la Balsa de los Sapos.

1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las dimensiones de huevos de nemátodos gastrointestinales encontrados en anfibios de la especie *Gastrotheca litonedis*.
- Cuantificar huevos de nemátodos mediante el método de McMaster con el propósito de obtener la carga parasitaria en individuos de la especie *Gastrotheca litonedis*, mantenidos en cautiverio.

CÁPITULO II: MARCO TEÓRICO

1.1 Especie en estudio

La rana marsupial Azuaya, *Gastrotheca litonedis*, obtiene su nombre del griego *litos* que significa “llanura” y *nedys* que significa “vientre” (Chasiluisa, Coloma, Frenkel y Féliz-Novoa, 2017).

1.2 Descripción física de la especie

Esta especie, fue detallada por Duellman en el 2015, quien describe tomando 24 especímenes, y encontró que tiene un cuerpo robusto, cabeza más ancha que larga. Su rostro es redondeado con parte posterior de la cabeza cóncava, cuenta con una distancia interorbital el doble de ancho que su párpado superior. Su área internarial es plana. Tiene nostrilos escasamente protuberantes, el diámetro del ojo es ligeramente menor que la distancia de su fosa nasal. Su tímpano tiene forma ovoide y está ligeramente separado del ojo. Los brazos son robustos con manos de tamaño moderado y los dedos carecen de membranas. En relación a sus miembros posteriores, son cortos y robustos con dedos largos. La piel tiene una textura variable dependiendo la parte del cuerpo que puede ser: areolada, lisa, granular y postular. Una de las características para poder diferenciar a las hembras es la forma en “u” que tiene la apertura de su marsupio que está a nivel del sacro. En cuanto a su coloración a nivel del dorso posee un color verde o marrón, algunos individuos tienen varias marcas café oscuro. Sus flancos son de color café bronce, axila, ingles y muslos son azules con tonos bajos y su vientre es gris cremoso (Chasiluisa et al., 2017).

1.3 Distribución y Población

Se conoce la distribución de *Gastrotheca litonedis* en base a ocho localidades en los valles interandinos de los Andes del sur de Ecuador a 1750 km² entre las cuales están las provincias de Cañar, Azuay y Loja (Ver figura 1), (Chasiluisa et al., 2017). De acuerdo a su estado de conservación, la población está disminuyendo y se encuentra en peligro según la Unión Internacional para la

Conservación de la Naturaleza (UICN) y está dentro de la lista roja de anfibios del Ecuador (LR). Dentro de las más importantes amenazas para esta especie se encuentran: deforestación, fragmentación del hábitat natural, ampliación de la frontera agrícola, asentamientos humanos, contaminación de agua y suelo, especies invasoras, cambio climático y enfermedades (UICN, 2017), (Ron, et al., 2018).

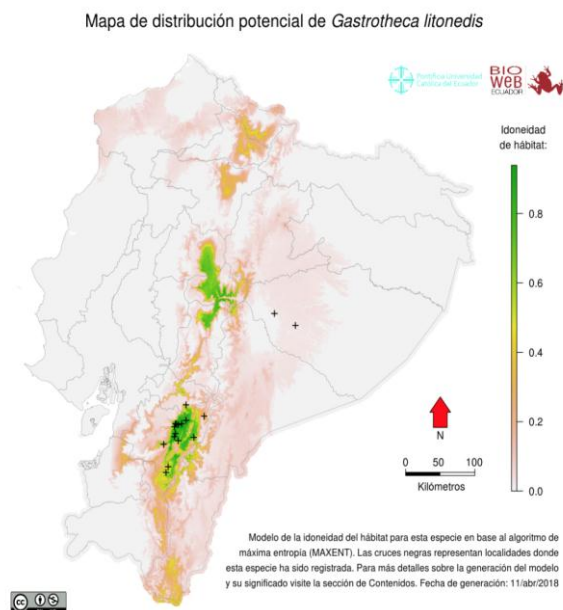


Figura 1. Mapa distribución de *Gastrotheca litonedis*.

Tomado de: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Chasiluisa, Coloma, Frenkel y Félix-Novoa, 2017.

1.4 Parasitismo en anfibios

En un estudio realizado por Reyes-Puig y Trujillo (2016) mencionaron que dentro de los parásitos que afectan a especies de anfibios se han reconocido en Centroamérica y Sudamérica especialmente los helmintos (trematodos, nematodos), cestodos, protozoarios y criptosporidios. Solamente los helmintos cuentan con alrededor de 289 especie reportadas en 186 hospederos que han sido estudiados mediante el método de necropsias una vez eutanasiados, siendo estos parásitos el mayor grupo obtenido para Latinoamérica. Dentro de estos, se han estudiado las especies: *Acanthocephalus correalimai.*, *Aplectana spp.*, *Capillaria sp.*, *Catadiscus cohni.*, *Choledocystus spp.*, *Creptotrema*

Lynch., *Cylindrotaenia americana.*, *Falcaustra mascula.*, *Filaria sp.*, *Foleyella vellardi.*, *Glypthelmins spp.*, *Gorgoderina cryptorchis.*, *Icosiella neglecta.*, *Lanfrediella amphicirrus.*, *Mesocoelium sp.*, *Microfilaria sp.*, *Ochoterenella spp.*, *Ophiotaenia bonariensis.*, *Oswaldocruzia spp.*, *Oxyascaris sp.*, *Paraoxyascaris travassosi.*, *Physaloptera sp.*, *Plagiorchis hepaticus.*, *Rhabdias sp.*, *Taenia filariformis.* En Ecuador se han reportado los géneros *Aplectana*, *Ochoterenella* y *Oswaldocruzia*, dichos estudios no mencionan que se haya hecho alguna prueba en animales vivos, ni tampoco tomando muestras de heces para visualizar huevos de nematodos y la carga parasitaria (Reyes-Puig y Trujillo, 2016).

Los daños que pueden causar los parásitos a los anfibios que son parasitados severamente están: deformidades, irritación, incremento de la mucosidad, abscesos hepáticos, úlceras en vejiga, debilidad, pérdida de peso, diarrea, lesiones en piel, prolapso intestinal, sin embargo, poco se ha estudiado la parasitología en estos animales, se emplean muchas suposiciones de lo que podría estar causando todos estos problemas (Iannacone y Manyari, 2007; Mitchell y Tully, 2009). Adicionalmente los trematodos o nematodos pueden encontrarse enquistados en varios órganos (Ver figura 2), (Cox, 1971).

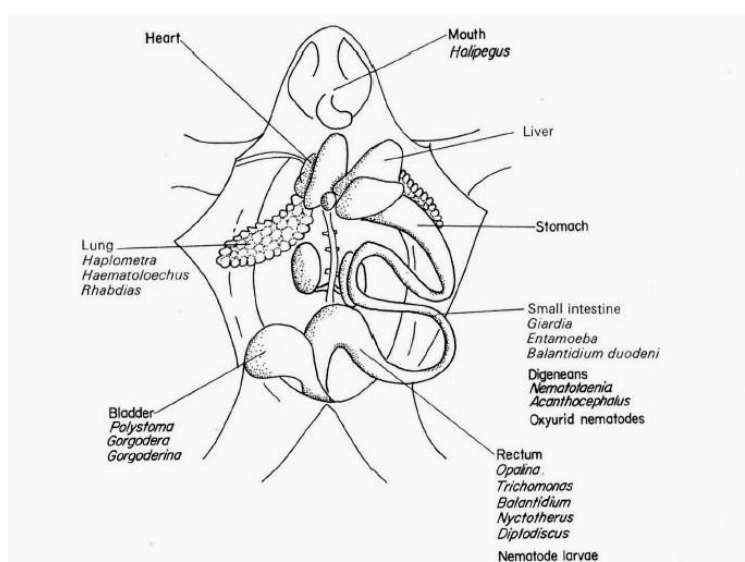


Figura 2. Distribución de parásitos comunes en anfibios.

Tomado de: Cox, 1971.

1.5 Grupos parasitarios

1.5.1 Nemátodos

Los nemátodos son parásitos redondos, su forma de cuerpo es alargada, no segmentados y con una cutícula externa que presenta una anulación que no es visible, poseen aparato digestivo, cavidad general, sexos separados y constan de un ciclo de vida directo o indirecto.

Son el grupo más diverso de parásitos, después de los artrópodos. Se han descrito alrededor de 25,000 especies de nemátodos que incluyen 10,000 nematodos marinos y terrestres de vida libre, 3,500 parásitos de invertebrados y 12,000 parásitos nemátodos de vertebrados (Morand, Bouamer y Hugot, 2006). Al ser un grupo tan diverso, pueden ubicarse en cualquier tejido o dentro del lumen de órganos o cavidades corporales, siendo los de mayor preocupación en anfibios en cautiverio los que afectan al intestino y pulmones (Ver figura 2), (Cox, 1971; Mayer y Donnelly, 2013).

El ciclo biológico consta de sexos separados, para diferenciar machos de hembras habitualmente los machos son más pequeños que las hembras, las cuales ponen huevos o larvas, constan de un ciclo completo que tiene cuatro mudas y sus estadios larvarios se los designa con L1, L2, L3, L4 y L5 que es la larva adulta inmaduro (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn y Jennings, 2001).

En el ciclo directo, las larvas se desarrollan en el medio ambiente, las cuales tiene dos mudas y la infección se da por la ingesta de la larva L3. Muchas veces pueden infectar mediante la penetración a la piel o se puede dar por la ingesta de los huevos que dentro de estos tienen una larva. En el ciclo indirecto las dos primeras mudas se dan por la inoculación de la L3 y después ocurren las siguientes mudas que logran alcanzar una larva L5 que da resultado a un adulto inmaduro. A continuación de la próxima cópula inicia de nuevo el ciclo (Soulsby, 1987), (Mehlhorn y Piekarski, 1993), (Cordero del Campillo, et al., 1999), (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn y Jennings, 2001), (Quiroz, 2013).

Cuentan con una gran variedad de hábitats, pueden tener vida libre, en el suelo, en agua dulce y agua salada (Quiroz, 2013). La cutícula presenta una estructura acelular que es secretada por una capa de células que se encuentran en la hipodermis, la cual es una capa delgada que posee engrosamientos tubulares llamados: cordón dorsal que cuenta con dos laterales y uno ventral. Además de esto, el sistema muscular tiene dos músculos especializados y no especializados que se encuentran proximal a la hipodermis que forman una sola capa de células, esto hace que tengan los movimientos del cuerpo, que pueden ser movimientos ondulares que se producen por la contracción y relajación muscular (Urquhart, et al., 2001), (Quiroz, 2013).

Su sistema digestivo es tubular y largo, dando inicio por la abertura oral, se encuentra localizado en el extremo anterior del nematodo. Puede presentar o no labios que varían su número y posición según la especie, la boca se encuentra como la primera parte del tracto digestivo, consta de la faringe y pueden presentar estructuras que se parecen a dientes, por ejemplo: en nemátodos de las especies *Rhabditidae* y *Strongyloides* (Urquhart, et al., 2001), (Quiroz, 2013).

El sistema reproductor de la hembra consta de: ovario, oviductos y útero, pueden ser pares, y que terminan en una vagina corta que se abre en la vulva. En los machos presentan un solo testículo y un vaso deferente que finaliza en el conducto eyaculador adentro de la cloaca. Al momento de cópula el esperma del macho es transportado desde su cloaca hasta el útero de la hembra (Urquhart, et al., 2001).

2.5.1.1 Desarrollo de los huevos

Los huevos de nemátodos se diferencian por su forma y tamaño. Estos huevos constan de tres capas: interna, media y externa. Con lo referente al desarrollo, los huevos se diferencian por la especie los cuales pueden desarrollarse en el medio ambiente o luego de la ingesta. La larva, por la acción enzimática secretada por la misma y sus propios movimientos busca la humedad del

medio ambiente y por eso puede aumentar la ruptura de sus capas para lograr conseguir su salida (Urquhart, et al., 2001).

2.5.2 Protozoarios

Estos parásitos en los anfibios, pueden estar relacionados o no relacionados con enfermedades, sin embargo, los ciliados ectoparasitarios, amebas y microsporidios si se los registra como patógenos. Los flagelados gastrointestinales pueden ser benignos en anfibios sanos, pero si están en situaciones de estrés hay aumento de la población, lo que los convierte patógenos potenciales (Aguilar, Hernández, Divers y Perpiñán, 2010).

2.5.2.1 Coccidiales

Entre este grupo de parásitos se tiene el *Cryptosporidium* spp. Es un parásito protozooario con distribución mundial, se ha reportado en vertebrados e invertebrados, registrando 22 especies: cuatro en peces, una en anfibios, dos en reptiles, tres en aves y doce en mamíferos (Avedaño, Amaya, y Badoya, 2010).

2.5.2.2 Ciliados y flagelados

Los taxones de ciliados y flagelados con mayor frecuencia encontrados son las *Trichomonas*, *Diplomonas*, *Hexamitas*, *Oximonas*, *Proteromonas* y las *Retortomonas* (Aguilar et al., 2010).

2.5.3 Céstodos y tremátodos

Los tremátodos se dividen en: monogeneanos y digeneanos, ambos pueden infectar a los anfibios como hospedero intermediario o definitivo. Cuando el anfibio es un huésped intermediario para el tremátodo o céstodo, las larvas se enquistan en los músculos y demás órganos, en grandes cantidades de quistes o que se han formado en un lugar crítico pueden llegar a comprometer la función de este órgano y como huésped final estos platelmintos adultos llegan a vivir en el lumen intestinal o en la luz de la vejiga (Aguilar et al., 2010).

2.5.4 Pentástomas

Son artrópodos con características semejantes a la de un gusano, se alojan a nivel nasal, tráquea o el pulmón del hospedero (Aguilar et al., 2010).

2.6 Diagnósticos parasitológicos

Las técnicas más usadas para la examinación fecal en anfibios son: flotación fecal, observación directa, sedimentación fecal, técnica de Baermann, y esporulación, esta última se usa especialmente para observación de ooquistes de protozoarios (Pessier y Mendelson, 2010).

2.6.1 Método de Flotación

Esta técnica se fundamenta por la flotación de los huevos en una solución más densa que el agua, las soluciones más utilizadas en la práctica veterinaria son: sal común, sulfato de zinc y solución saturada de azúcar. Esta técnica nos va ayudar a observar huevos de nemátodos, ooquistes de protozoarios y huevos de céstodos (Dryden et al., 2006; Figueroa et al., 2015) y para que los huevos floten la solución saturada de azúcar y la cual fue utilizada en este trabajo debe ser mayor que la de estos.

2.7 Técnica cuantitativa de McMaster

Es uno de los métodos más usados en coprología cuantitativa diseñada por McMaster. Las determinaciones cuantitativas proporcionan la intensidad del parasitismo, que es expresada en número de huevos por gramos de materia fecal. En este método se utiliza una cámara que cuenta con un portaobjetos que tiene pegado un cubreobjetos, que da la forma de tres espacios, encima de cada espacio de vidrio está grabada una cuadrícula, permitiendo que los huevos de parásito floten en este medio y suban a la superficie del cubreobjetos (Cordero del Campillo, et al., 1999).

2.7.1 Muestreo por *pool*

El principio general de esta técnica es que solamente nos dará una idea de la infección de los animales que se encuentran mantenidos en grupos. Idealmente se obtiene una mezcla de muestras tomadas de un total de heces de todos los animales. Estas muestras solamente nos servirán por un periodo de 24 horas mantenidas en refrigeración (Thienpont, Rochette y Vanparijs, 1985).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

- **Ciudad:** Quito
- **Parroquia:** Pichincha
- **Dirección:** Avenida 12 de Octubre 1076 y Vicente Ramón Roca.
- **Coordenadas:** El Girón, Quito 170143, Ecuador (-0.2089895, -78.49157120000001)
- **Altura:** 2850 m.s.n.m.
- **Precipitación:** 1273 m.m

3.2. Área de Estudio

Esta investigación se ejecutó en las instalaciones del proyecto Balsa de los Sapos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) ubicada en el subsuelo de la Facultad de Biología. Este centro cuenta con cuatro salas numeradas con las letras A, B, C y E. Para el mantenimiento de diferentes especies, disponen de una temperatura similar para cada necesidad que requieran los animales. Las salas cuentan con terrarios ubicados verticalmente que albergan a los animales situados en estanterías que dividen cada piso con diferentes especies de anfibios, cada uno de los pisos tiene terrarios identificados con números, nombre de la especie y cantidad de animales. Mantienen la humedad de las salas mediante riego de agua para cada uno de estos terrarios, se realiza un riego de cuatro a cinco veces por día, las salas son iluminadas por luz fría. La alimentación de los animales se basa en grillos, roedores y tenebrios, los cuales son criados dentro de otra sala llamada bioterio (Ortega, 2016).

La especie en estudio, *Gastrotheca lintonedis* se encuentra instalada en la sala B, habitualmente la alimentación de dicha especie se realiza dos veces por

semana, los terrarios son limpiados semanalmente por el personal de la Balsa de los Sapos.

3.3. Población y Muestra

La población total de *Gastrotheca litonedis* se constituye de 51 animales muestreados, 28 machos y 23 hembras adultas, de los cuales se realizó un *pool* con la cantidad general de heces obtenida de todos los terrarios de estudio (Ver figura 3). La Balsa de los Sapos puso a disposición los individuos de esta especie para la elaboración de esta investigación.



Figura 3. Pool del total de muestras obtenidas.

3.4. Materiales

Para la efectuar la investigación se detallan los materiales necesarios que son detallados en anexo 1.

3.4.1 Mediciones morfométricas

Inicialmente a cada animal se midió la longitud SVL (recto boca-cloaca). Para la medición de la longitud SVL se usó un calibrador Scala ® (Ver figura 5). Se peso a cada animal usando una balanza digital CAMRY (CAMRY, China), (Ver

figura 4). Las medidas se registraron en una tabla de Excel (Ver anexo 2). Los animales se manipularon con precaución, usando guantes quirúrgicos.

Posteriormente, se tomó las muestras de cada terrario de la especie en estudio. El procesamiento de las técnicas y análisis para la creación de resultados, se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Las Américas (UDLA).

3.4.2. Sexo

El sexo de cada espécimen fue determinado observando directamente y se determinó que las hembras presentaban su marsupio en forma de “u” a nivel de la zona sacra dorsal.



Figura 4. Balanza digital con la cual se pesó a cada animal.



Figura 5. Calibrador Scala® con el cual se midió largo recto boca-cloaca.

3.4.3. Tiempo en cautiverio

Para obtener los datos de tiempo en cautiverio se revisó la base de datos de la Balsa de los Sapos. Cada uno de los terrarios de esta investigación fueron buscados en dicha base. La información recopilada fue anotada en una hoja de cálculo de Excel, especificando la fecha de ingreso (Ver anexo 2).

3.4.4. Colecta de muestras

Para conseguir las muestras se alimentaron los animales uno a dos días anteriores a la toma de las muestras. La alimentación de los animales se basó en grillos, roedores y larvas de diferentes insectos. El alimento fue tomado con una pinza y directamente ofrecido frente a la boca de los animales. Posterior a esto, se observó en los siguientes días si los animales defecaron. Las heces fueron recolectadas en recipientes limpios y herméticos especialmente utilizados para este tipo de muestras (Ver figura 6). Las muestras se identificaron con stickers y se marcaron cada caja, que tuvo información con el número de terrario, fecha, número de animales de cada terrario muestreado. Las muestras fueron agregadas a un *pool* con la ayuda de una paleta de madera estéril. Esto se lo realizó para obtener de 2 gramos de heces necesarios para posteriores análisis.



Figura 6. Las muestras se colocaron en cajas para muestras de heces.

3.4.5. Transporte de muestras

Las muestras fueron transportadas desde la Balsa de los Sapos de la Universidad Católica del Ecuador en un cooler con hielo gel al Laboratorio de Microbiología de la (UDLA). Una vez que las muestras estuvieron en el laboratorio se procedió a mantenerlas en refrigeración a una temperatura de cuatro grados centígrados (Cordero del Campillo et al., 1999).

3.5. Análisis Coproparasitarios

3.5.1. Método de flotación

Se preparó una solución saturada de azúcar diluyendo 4 gr de azúcar en 10 ml de agua destilada con la ayuda de un agitador de vidrio. A continuación, se pesaron 2 gr de heces, se colocaron en un vaso de precipitación junto con la dilución. La proporción de la mezcla solución/heces fue de 9:1, se homogeneizo hasta obtener una suspensión semisólida de muestra usando el agitador de vidrio (Figura 7). Esta suspensión se filtró con la ayuda de un cernidor casero o dos capas de gasas (Figura 8). Este filtrado se vertió en un tubo de ensayo de 20 ml y se selló con un tapón rojo (Figura 9).

El contenido de los tubos de ensayo fue centrifugado a 1500 revoluciones por minuto (rpm) con una centrífuga Hettich Rorofix 32A®, (Hettich, Estados Unidos) durante 3 minutos (Figura 10). Pasado este tiempo se retiró el tubo de ensayo, se abrió y se decantó el sobrenadante que contenía las grasas y pigmentos disueltos. Se centrifugó nuevamente el tubo de ensayo por 5 minutos a 1500 rpm con la misma centrífuga (Bowman, 2004). A continuación, se cuantificó los huevos por el método de McMaster.

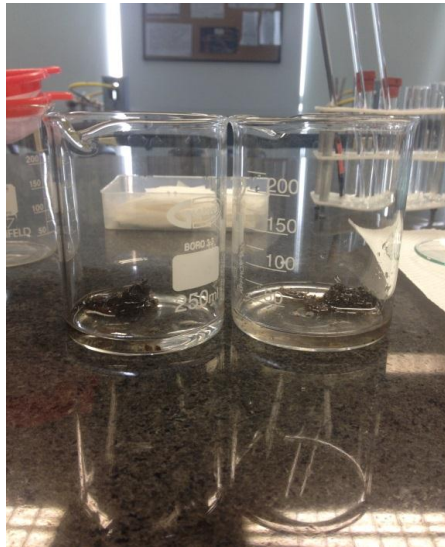


Figura 7. Muestras con dilución de glucosa.



Figura 8. Suspensión fecal con dilución de glucosa.



Figura 9. Muestra de heces con dilución de glucosa.
Preparación para centrifugar.



Figura 10. Centrifuga para la mezcla a 1500 rpm

3.6. Método McMaster

Luego de terminados los procesos anteriormente descritos, se recogió la película superior que contiene huevos con una jeringa de 1 ml (insulina) tocándola suavemente y se colocó en la cámara de recuento McMaster (Cordero del Campillo et al., 1999), (Bowman, 2004).

3.7. Lectura de cámara de McMaster

3.7.1. Conteo de huevos

Con la cámara bajo el lente 10 X, se empezó el conteo de los huevos, de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha. Las mediciones de huevos se realizaron en un microscopio BX51 (Olympus, Tokio, Japón) que cuenta con una cámara DP71 (Olympus, Tokio, Japón). Toda la información fue a un software Cellsens (Olympus, Tokio, Japón), (Ver figura 11). El resultado que se obtuvo fue: huevos por gramo (hpg).

3.7.2. Medición de huevos

Con ayuda de este equipo se seleccionaron 50 huevos escogidos al azar por cada muestreo, utilizando lente de 20 X de aumento para fotos y mediciones de huevos. Se realizó una base de datos en Excel de todos estos hallazgos con largo y ancho de huevos con el género de todos los huevos con sus medidas (Ver anexo 3).



Figura 11. Microscopio preparado con cámara de McMaster con la muestra para medición de huevos y software

3.8. Análisis de datos

Esta investigación por ser del tipo descriptivo observacional, se efectuó una estadística descriptiva. Los parámetros hallados fueron: media, desviación estándar, mínimo y máximo de las medidas morfométricas (peso y largo recto boca-cloaca). En la actualidad no se cuenta con registro de carga parasitaria de nematodos en anfibios tampoco de las mediciones de huevos en animales en su estado natural para calificar a estos parásitos. En esta investigación se comparó con reportes de mediciones realizados en otras investigaciones para poder tener una idea de que especies pueden estar parasitando a *Gastrotheca litonedis*, ya que, métodos más específicos como los de biología molecular por presupuesto y tiempo, no pueden ser realizados. La identificación se realizó en base a una búsqueda bibliográfica de libros, artículos científicos y tesis. Con esta información se pudo clasificar en género y especie de parásitos nematodos encontrados (Ver resultados y discusión).

3.9. Diseño experimental

Se elaboró un estudio descriptivo observacional de la carga parasitaria en anfibios de la especie *Gastrotheca litonedis*, el cual se basa en reportar la existencia de parásitos gastrointestinales. Para esto se utilizó un total de 51 animales.

3.10. Hipótesis

3.10.1. H1.

Se reporta compatibilidad con huevos de nematodos gastrointestinales de especímenes en cautiverio de la especie *Gastrotheca litonedis*, mantenidos en cautiverio en la Balsa de los Sapos de la Universidad Católica del Ecuador.

3.11. Análisis estadístico

Se utilizaron indicadores estadísticos descriptivos (i.e. media, desviación estándar, etc.) fueron utilizados para caracterizar las mediciones de largo y ancho de los huevos. El promedio de cada una de las medidas individuales de peso del animal, tiempo de cautiverio y largo recto boca-cloaca por cada *pool*

de muestra analizado fue calculado para establecer la relación de estas variables con el nivel de carga parasitaria. El índice de correlación de Pearson fue utilizado para establecer el nivel de correlación entre las variables peso del animal, tiempo en cautiverio y carga parasitaria. La fuerza de asociación y la dirección de la relación entre las variables físicas de *Gastrotheca litonedis* con la carga parasitaria fueron analizados mediante regresiones lineales.

4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Hallazgos de carga parasitaria

En la tabla 1 se puede observar la carga parasitaria de huevos por gramo (hpg) realizadas en diferentes fechas de muestreo, como también su respectivo número de animales muestreados, peso, largo recto boca-cloaca y tiempo en cautiverio.

Tabla 1
Resultados de carga parasitaria en la especie *Gastrotheca litonedis*. Promedio, Desviación estándar, Mínimo y Máximo.

Fecha de muestreo	Número de animales (n)	Carga parasitaria (hpg)	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (mm)	Tiempo en cautiverio (Días)
06/09/2017	3	2768	27,87 ± 7,86 (18,30 -41,34)	49,9 ± 1,89 (47,35-52,63)	3267,00±17,56 (3244,00-3278,00)
11/09/2017	5	2216	24,43 ± 4,67 (18,30-31,20)	49,95 ± 1,84 (47,35-52,63)	3343,00±193,25 (3244,00-3736,00)
19/09/2017	9	2784	23,87 ± 4,64 (18,30-31,20)	49,91 ± 1,92 (47,07-52,63)	3419,00 ± 245,76 (3244,00 -3736,00)
26/09/2017	8	2408	25,20 ± 3,92 (20,70-31,20)	49,37 ± 1,38 (47,07-50,66)	3420,00 ± 245,42 (3244,00 -3736,00)
04/10/2017	3	2420	23,72 ± 4,64 (18,30-31,20)	49,83 ± 1,93 (47,07-52,66)	3420,00 ± 245,07 (3244,00 -3736,00)
09/10/2017	3	2608	22,92 ± 3,35 (18,30-26,60)	49,91 ± 1,98 (47,07-52,66)	3427,00 ± 240,17 (3244,00 -3736,00)
16/10/2017	3	2600	22,94 ± 3,34 (18,30-26,60)	51,26 ± 4,13 (47,07-58,69)	3463,00 ± 249,21 (3281,00 -3736,00)
24/10/2017	9	2624	24,05 ± 3,56 (18,30 -27,40)	51,75 ± 3,92 (47,07-58,69)	3373,00 ± 203,04 (3281,00 -3736,00)
02/11/2017	5	2708	24,05 ± 3,56 (18,30 -27,40)	50,18±6,92 (37,62-58,69)	3283,00 ± 2,1909 (3281,00 -3285,00)
08/11/2017	3	2704	25,75 ± 6,16 (18,30 -36,20)	51,04±7,13 (37,62-58,69)	3283,00 ± 2,1909 (3281,00 -3285,00)
Total	51	2584,00 ± 66,73 (2216,00 - 2784,00)	24,48 ± 1,45 (18,30 - 41,30)	50,30 ± 2,16 (37,63 - 58,69)	3369,74 ± 110,11 (3244,00-3736,00)

Abreviaturas: hpg: huevos por gramo, gr: gramos, mm: milímetros

4.1.1. Tiempo en cautiverio

Si se observa la Tabla 1, los animales están en cautiverio por más de 9 años, inclusive llegando a superar los 10 años. No se conoce la edad real, tampoco la fecha de nacimiento de estos animales ya que todos fueron recogidos en campo.

Asimismo, no existe estudios del tiempo de vida en cautividad de la especie *Gastrotheca litonedis* es por eso que no se puede comparar los datos obtenidos con estadísticas existentes, Aguiar (2013) menciona que en la especie *Ceratophrys stolzmanni* tiene un promedio de vida en cautiverio de 7 años. Esto podría ser un indicativo que han tenido buenas prácticas de manejo durante su cautiverio. Pese a esto en algunos animales que se tomó las muestras se pudo observar que presentaban signos de síndrome de edema, caracterizado por acumulo de líquido en diferentes partes del cuerpo (Cando, 2017).

4.1.2. Largo recto boca-cloaca (LRBC)

Como se observa en la tabla 1 los valores obtenidos de LRBC se encuentran dentro de los rangos 4,89 cm- 6,24 cm reportados por Duellman y Hillis (1987). Una morfología comparativa de los especímenes fue realizada basándose en las investigaciones de Duellman y Hills (1987). Ellos reportan medidas de largo recto-boca-cloaca en hembras fueron de 53,10 mm, desviación estándar de 3,21 mm, un mínimo de 48,20 mm y máximo de 62,40 mm y en machos 47,90 mm desviación de 3,18 mm, un mínimo de 42,30 mm y máximo de 52,50 mm.

En la comparación de los datos se observó que los tamaños de hembras y machos entrarían en los rangos de la investigación de Duellman y Hills (1987) sin embargo, son un poco mayores las medidas de esta tesis ya que los animales se encuentran en cautiverio y los animales del estudio comparativo fueron obtenidos en el hábitat natural. Los animales en cautiverio de este trabajo de tesis fueron adultos y de la investigación con la que se comparó fueron animales adultos y no adultos, esto también podría explicar la diferencia entre las medidas.

4.1.3. Peso de los animales

Se observa en la tabla 1 el promedio de peso de los animales fue de 24,48 g, una desviación estándar de 1,45 g, un mínimo de 18,30 g y un máximo de 41,30 gr. Los animales mostraron pesos homogéneos y rangos normales de peso, no se sabe con exactitud los pesos normales para *Gastrotheca litonedis*.

4.1.4. Carga parasitaria

El promedio de la carga parasitaria en la población fue de 2584,00 hpg, una desviación estándar de 66,73 hpg, un mínimo de 2216,00 hpg y un máximo de 2784,00 hpg. No se pudo comparar con otros estudios en cuanto a la carga parasitaria en nematodos gastrointestinales en anfibios, es por eso que no se infiere si en animales en cautividad tienen esta carga parasitaria y así determinar que este valor está dentro de lo normal.

Cabe mencionar que unos cuantos animales dentro de esta investigación presentaban síndrome de edema y además presentaron heces más blandas de lo normal que podría representar diarrea, no podemos saber a ciencia cierta que los parásitos podrían estar ocasionando estos problemas.

Estos resultados pueden ser tomados como referencia para otras poblaciones de *Gastrotheca litonedis* que estén en condiciones de cautiverio similares a las acá descritas.

4.2. Géneros de parásitos encontrados en *Gastrotheca litonedis*

La metodología más usada según la bibliografía de los géneros de parásitos encontrados, mencionan que los nematodos gastrointestinales se hallaron mediante la necropsia de anfibios midiendo estos huevos dentro de la hembra del parásito adulto, las formas más comunes encontradas son mórula o estadio larval, en esta tesis se halló compatibilidad de los huevos en ambas formas según la especie (Baker, 1980), (Slimane y Durette-Desset, 1995), (González y Hamann, 2008), (Pessier y Medelson, 2010), (González, Quiroga, Moreno, y Sanabria, 2013).

No se reporta estudios de mediciones de huevos en anfibios directamente de las heces de anfibios en su estado natural, cabe mencionar, en un estudio de G3nzales, Quiroga, Moreno y Sanabria (2013), se compara los tama1nos de par3sitos y huevos de diferentes especies de anfibios, lo que indic3 este estudio que los tama1nos de par3sitos y huevos pueden variar seg3n la especie de anfibio (Ver capitulo *Aplectana hylambatis*), por consiguiente, las medidas podr3an tener variaciones y no coincidir con las especies que se encontr3 en esta tesis, es por eso que, es importante la realizaci3n de estudios en base a biolog3a molecular para la identificaci3n de los par3sitos nem3todos presentes en esta especie de anfibio para comprobar o prescindir los g3neros que se hallaron en esta primera b3squeda.

Este trabajo podr3a ser de gran utilidad para nuevas investigaciones, ya que, es un estudio nuevo en cuanto a la realizaci3n de ex3menes coprol3gicos en anfibios en cautiverio, adem3s, no se encontr3 estudios que se detalle las medidas de los huevos en heces de anfibios vivos.

A continuaci3n de detallar3 los g3neros encontrados (Ver tabla 2), adem3s de las especies que podr3an ser compatibles a las halladas en esta tesis (Ver discusi3n de cada g3nero).

Tabla 2

Dimensiones comparativas de los huevos encontrados que se asemejan a los géneros *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Falcaustra*, *Oswaldocruzia*, *Oxyascaris*, *Pteroxyascaris*, *Rillietnema*, *Rhabdias*, *Strongyloides*. Promedio, desviación estándar (mínimo, máximo).

Género	Dimensiones (μm)		Otros estudios realizados									
			Baker, 1980		Vicente, Rodrigues, Gomes & Pinto, 1991		Gonzales & Hamann, 2008		Pessier & Mendelson, 2010			
			Largo (μm)	Ancho (μm)	Largo (μm)	Ancho (μm)	Largo (μm)	Ancho (μm)	Largo (μm)	Ancho (μm)	Largo (μm)	Ancho (μm)
<i>Aplectana</i>	75,94 \pm 2,48 (55,67-95,69)	48,78 \pm 1,15 (36,04-63,56)	55-102	40-80	49-66	35-53						
<i>Cosmocerca</i>	94,84 \pm 2,36 (93,04-105,60)	63,99 \pm 3,12 (54,48-69,85)						91-116	55-78			
<i>Falcaustra</i>	53,36	38,58			53	39						
<i>Oswaldocruzia</i>	84,55 \pm 0,40 (81,63-88,03)	52,37 \pm 0,52 (50,31-55,08)			80-92	46-59						
<i>Oxyascaris</i>	84,55 \pm 0,40 (81,63-88,03)	52,37 \pm 0,52 (50,31-55,08)			76-105	50-63		69-103,5	46-62,14			
<i>Pteroxyascaris</i>	69,09	49,01			67-80	42-50						
<i>Railletnema</i>	105,60	65,90			99-130	53-73						
<i>Rhabdias</i>	95,69	52,48			91-112	52-59		97-160	48-80			
<i>Strongyloides</i>	53,95 \pm 1,42 (52,95-54,96)	40,24 \pm 0,51 (39,88-40,61)										40-55

4.2.1 Género *Aplectana*

En la tabla 2. Se observa todas las mediciones halladas (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo). Al lado derecho de estos datos, se puede observar las referencias de estudios realizados según: Baker (1980), Vicente, Rodrigues, Gomes & Pinto (1991), González, Quiroga, Moreno y Sanabria (2013) con rangos de medidas de huevos del género: *Aplectana*, además, los órganos que se pueden encontrar estos parásitos nematodos. En estas investigaciones se registraron las mediciones de huevos con rangos que van de 55 a 102 μm de largo y de 40 a 80 μm de ancho. Es por eso que, existe compatibilidad a las mediciones de los huevos hallados en este trabajo a las especies: *Aplectana chamaeleonis*, *Aplectana delirae*, *Aplectana hylambatis*, *Aplectana lessi* y *Aplectana macintoshii*. A continuación, se observa en la figura 12, 13, 14, 15 y 16 los huevos compatibles a las especies descritas.

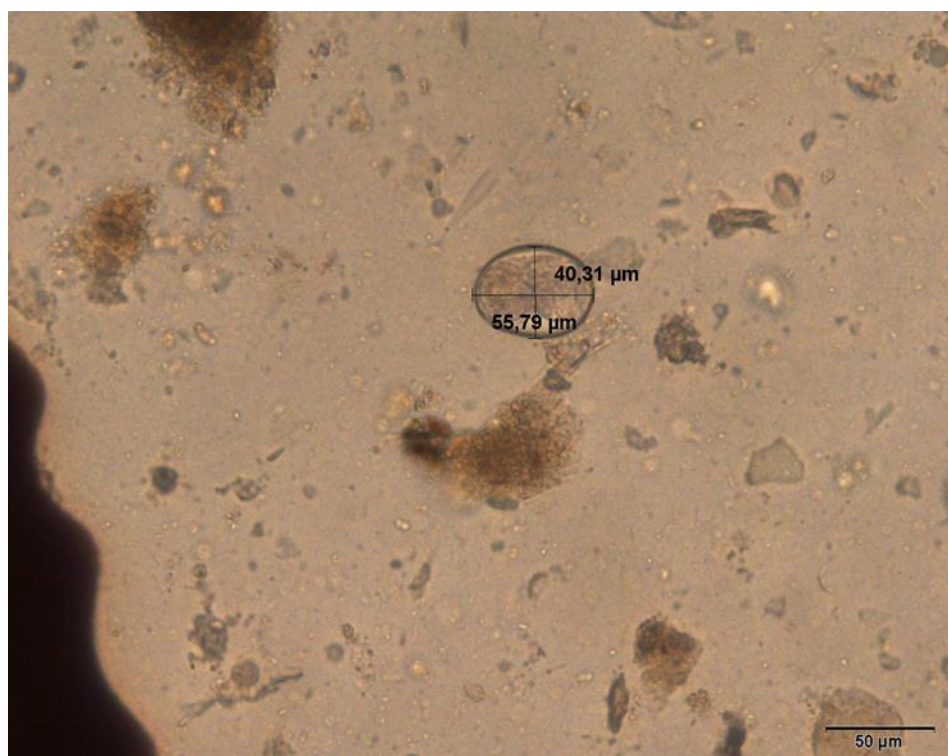


Figura 12. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Aplectana chamaeleonis* (55,79 μm x 40,31 μm). Identificación con lente 20x.



Figura 13. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Aplectana delirae* con (56,32μm x 38,28 μm). Identificación con lente de 20x.

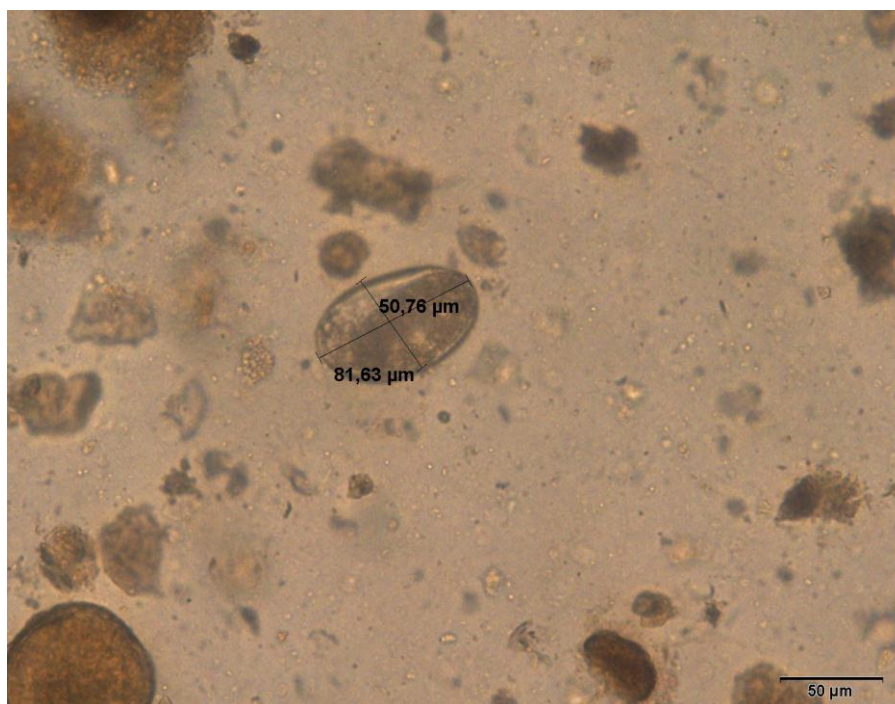


Figura 14. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Aplectana hylambatis* (81,63 μm x 50,76 μm). Identificación con lente de 20x.



Figura 15. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Cosmocerca lessi* (94,33 µm x 63,56 µm). Huevo larvado. Identificación con lente 20x.

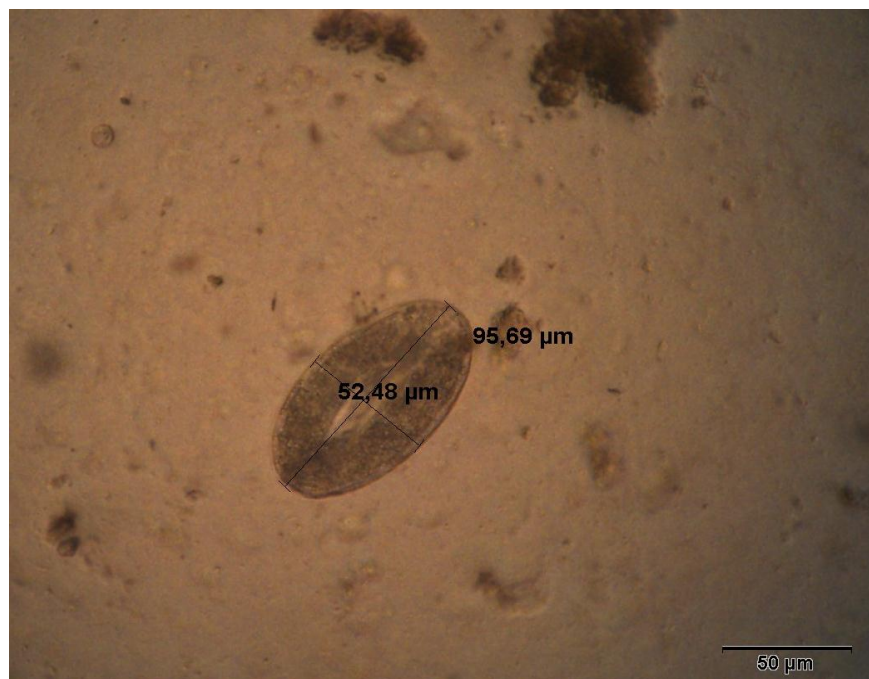


Figura 16. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Aplectana macintoshii* (95,89 µm x 52,48 µm). Se observa una larva completamente desarrollada. Identificación con lente 20x.

4.3. Género *Cosmocerca*

En la tabla 2. Se observa todas las mediciones halladas (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo) de los géneros y especies encontrados. Al lado derecho de estos datos, se puede observar las referencias de estudios realizados con rangos de medidas de huevos del género: *Cosmocerca*, Gónzales y Hamann (2008) detallan las mediciones de los huevos, dichas dimensiones encontradas en esta tesis se asemejan a las descritas por los autores anteriormente mencionados, además de esto, se hallaron dimensiones compatibles a las de esta tesis y a las especies: *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca podicipinus*.

A continuación, se observa en las figuras 17,18 y 19 los huevos encontrados.

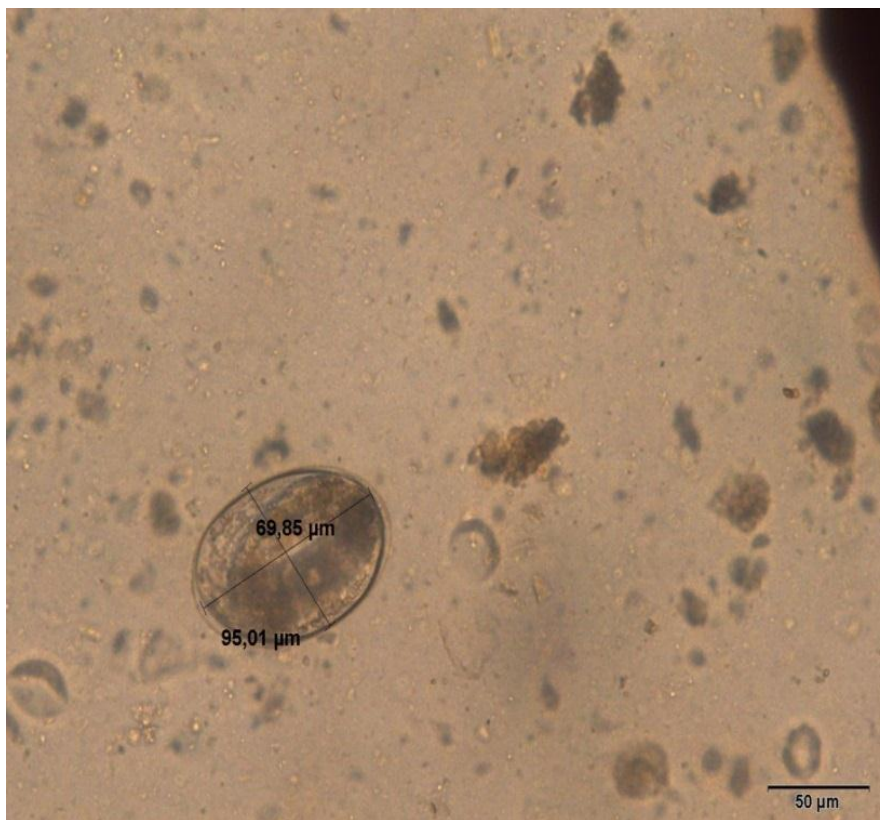


Figura 17. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Cosmocerca parva* (95,01 µm x 69,85 µm). Se evidencia un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

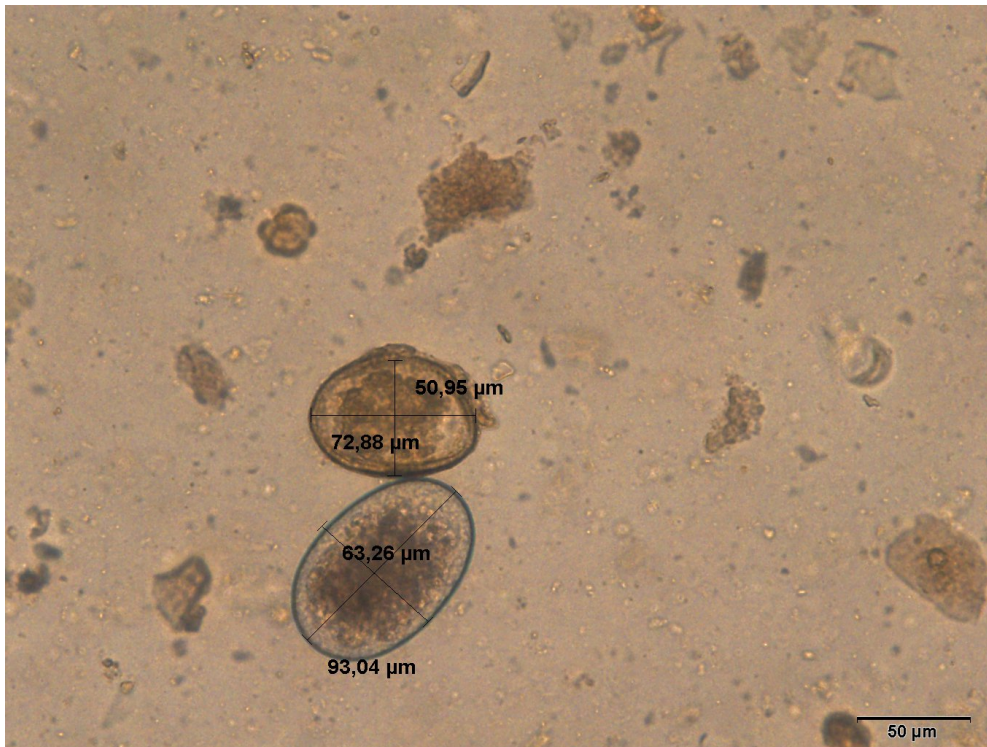


Figura 18. Huevo compatible por sus dimensiones la especie *Cosmocerca podicipinus* (93,04 μm y 63,26 μm). Se identifica un huevo morulado. También se observa un huevo compatible a la especie *Aplectana hylambatis*. Identificación con lente 20x.

4.4. Género *Falcaustra*

Vicente, Rodríguez, Gómez y Pinto (1991) encontraron los parásitos nematodos dentro del intestino grueso de la especie *Bufo marinus ictericus*, provenientes de Brasil y se midieron los huevos dentro de la hembra. Se registró un solo huevo de este género. Las medidas comparadas con este trabajo de tesis se asemejan a la especie *Falcaustra mascula* según los autores mencionados (Ver tabla 2). A continuación, se observa en la figura 19 uno de los huevos encontrados, así mismo, un huevo del género *Strongyloide*.

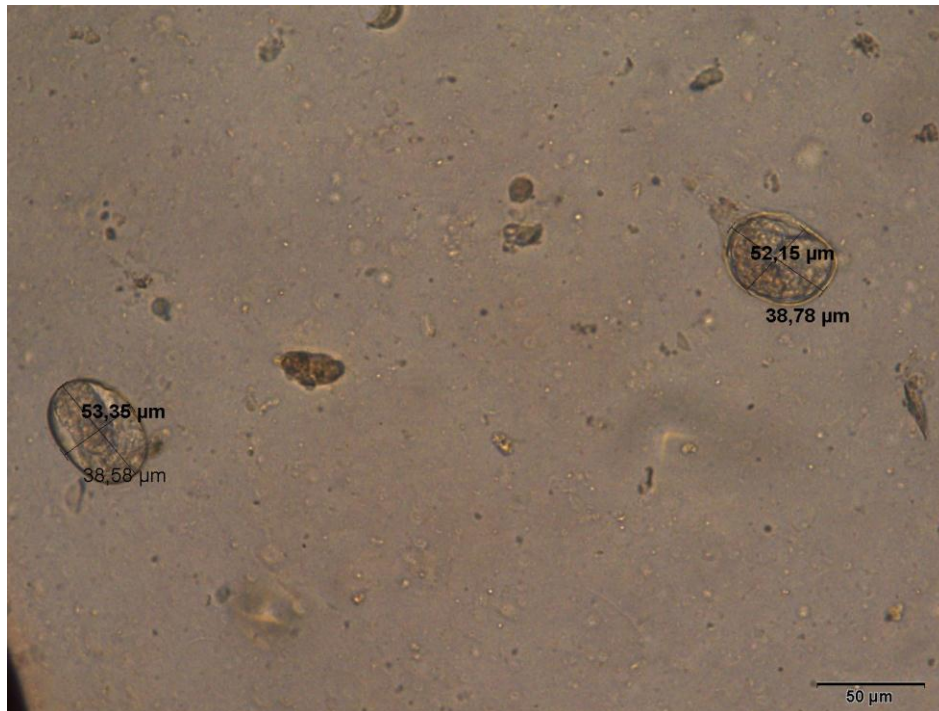


Figura 19. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Falcaustra* masculina (53,36 μm y 38,58 μm). Se identifica un huevo larvado, también se observa un huevo que se asemeja al género *Strongyloide*. Identificación con lente 20x

4.5. Género *Oswaldocruzia*

En la tabla 2. Se observa todas las mediciones halladas compatibles a este género (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo). Al lado derecho de estos datos, se puede observar las referencias de estudios realizados con rangos de medidas de huevos, Vicente, Rodrigues, Gomes y Pinto (1991) encontraron el parásito en intestino delgado en anuros de la especie *Leptodactylus ocellatus* proveniente de Brasil, registraron las medidas dentro de la hembra, siendo compatibles las mediciones de los huevos de esta tesis con las especies: *Oswaldocruzia lopesi*, *Oswaldocruzia mazzai*. A continuación, se observa en la figura 20 y 21 los huevos encontrados.

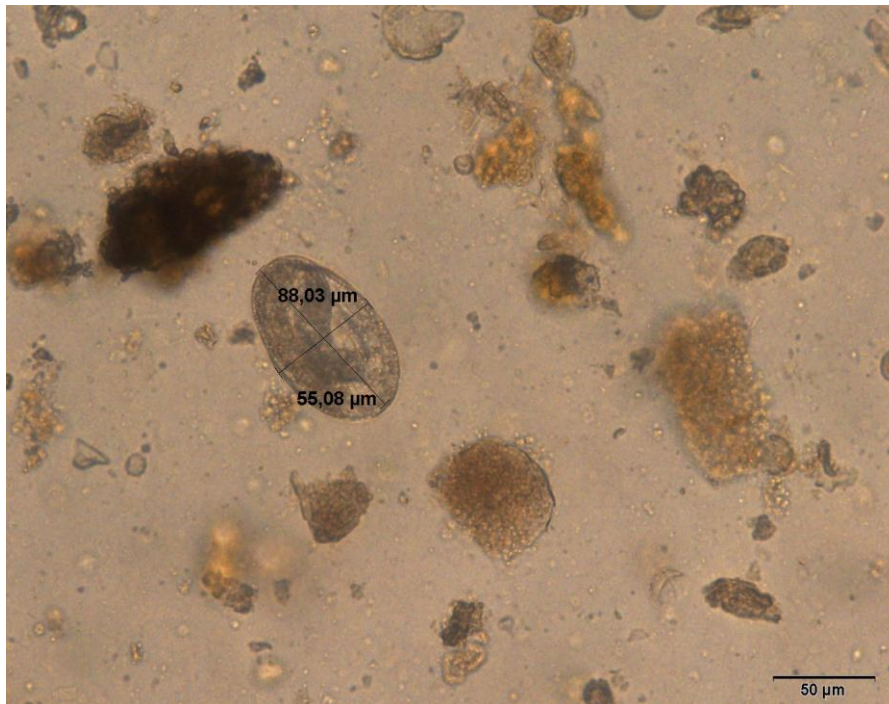


Figura 20. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Oswaldocruzia lopesi* (82,24 μm y 50,31 μm). Se identifica un huevo larvado, identificación con lente 20x

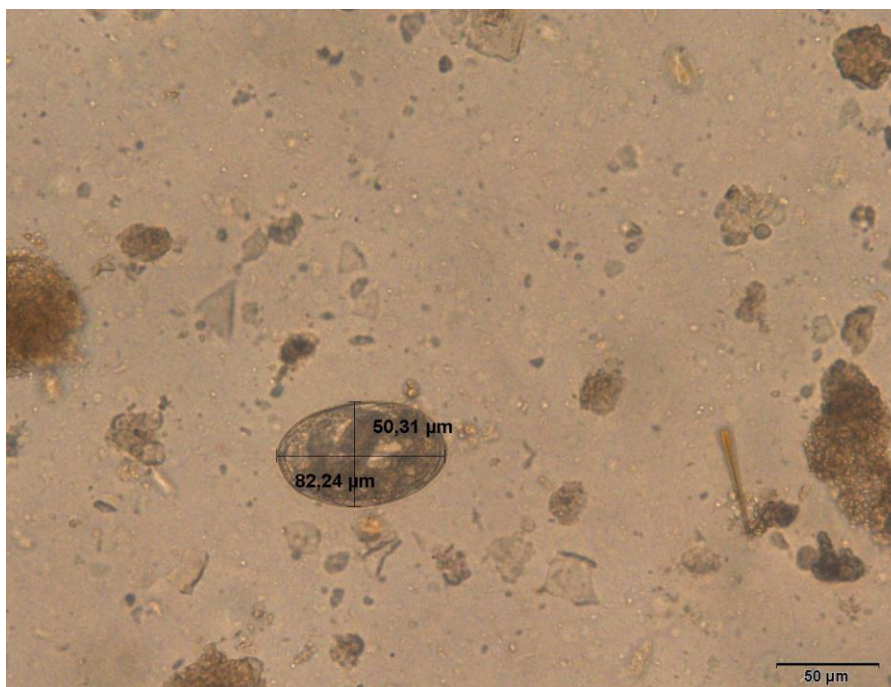


Figura 21. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Oswaldocruzia mazzai* (88,03 μm x 55,08 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

4.6. Género *Oxyascaris*

En la tabla 2. Se observa todas las mediciones de los huevos hallados (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo) dentro de este género. Al lado derecho de estos datos, se puede observar las referencias de estudios realizados con rangos de las medidas de huevos, Gónzales y Hamann (2008) hallaron parásitos en intestino delgado de un anuro de especie *Scinax acumulatus* provenientes de Corrientes, Argentina, además de esto, midieron a los huevos dentro de la hembra, siendo compatibles las mediciones a las de esta tesis con la especie: *Oxyascaris caudacutus*, en otro estudio, Vicente, Rodrigues, Gomes y Pinto (1991) encontraron parásitos de esta especie en un anuro de la especie *Leptodactylus mystaceus* provenientes de Brasil, se localizaron en estómago, intestino delgado y grueso, en cuanto a las dimensiones fueron detalladas dentro de la hembra, siendo compatibles a las encontradas en esta tesis con la especie: *Oxyascaris oxyascaris*. A continuación, se observa en la figura 22 y 23 los huevos encontrados.

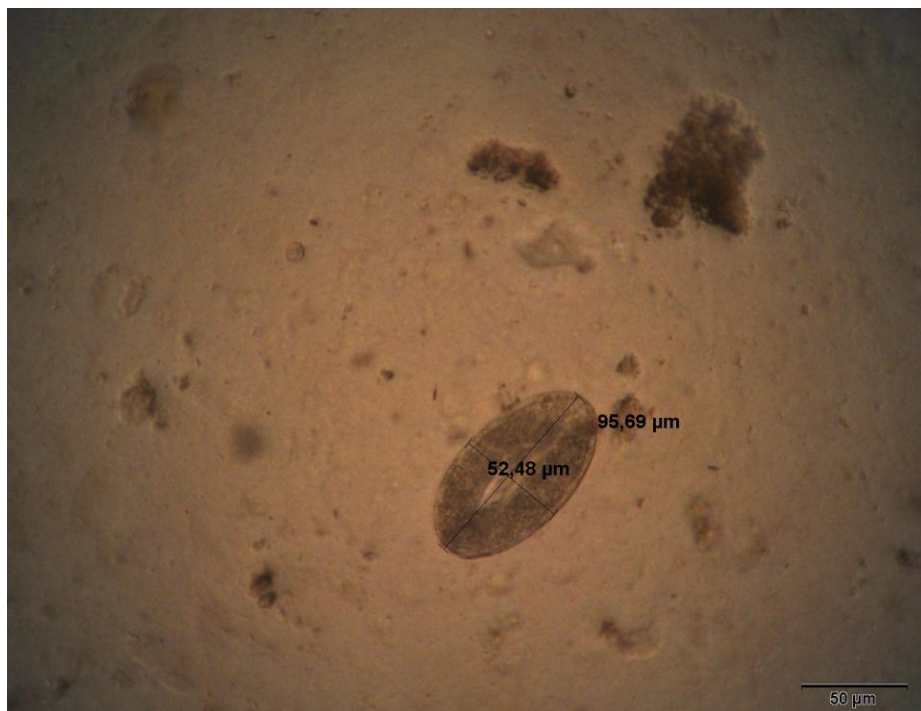


Figura 22. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Oxyascaris caudacutus* (95,69 µm x 52,48 µm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x



Figura 23. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Oxyascaris oxyascaris* (79,09 μm x 59,79 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

4.7. Género *Pteroxyascaris*

En la tabla 2. Se observa todas las medidas de los géneros encontrados pertenecientes a este género. Al lado derecho de estos datos, se puede observar las referencias de estudios realizados con los rangos de las medidas de huevos de dos especies compatibles a este género. En un estudio realizado por Vicente, Rodrigues Gomes y Pinto (1991) encontraron los parásitos en anuros provenientes de Brasil, dichos parásitos se alojaron en intestino delgado e intestino grueso. Las mediciones fueron realizadas dentro de la hembra del parásito, estas medidas son compatibles a las encontradas mostrando similitud a las especies: *Pteroxyascaris caudacutus* y *Pteroxyascaris similis*.

A continuación, en la figura 24 y 25 se observa huevos encontrados con posibles semejanzas a estas especies.



Figura 24. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Pteroxyascaris caudacutus* (49,01 μm x 69,09 μm). Se identifica un huevo morulado, identificación con lente 20x

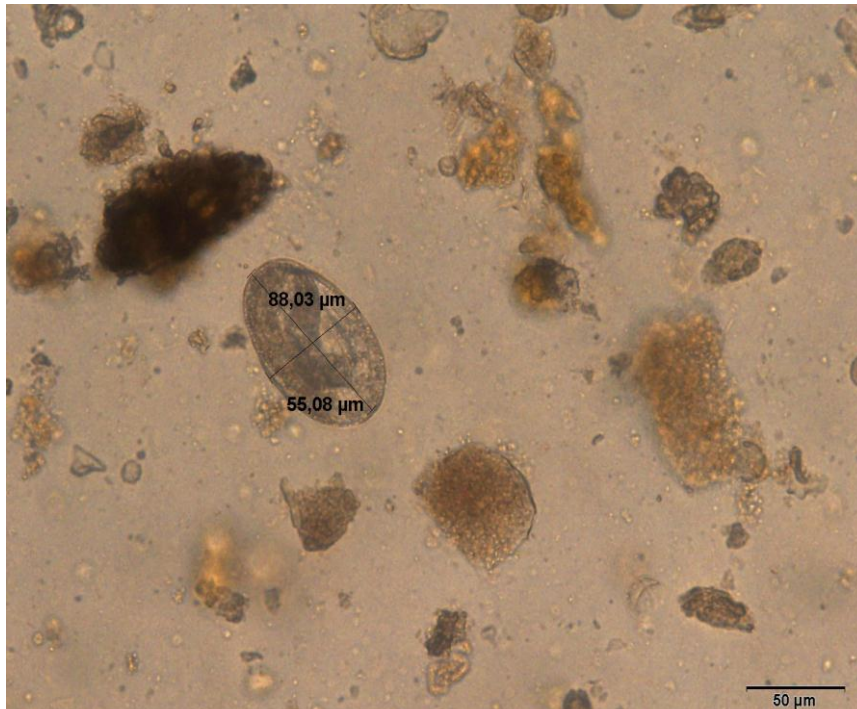


Figura 25. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Pteroxyascaris similis* (88,03 μm x 55,08 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

4.8. Género *Raillietnema*

Vicente, Rodrigues, Gomes y Pinto (1991) encontraron los parásitos en anuros de la especie *Bufo crucifer*, *Bufo ictericus* y *Leptodactylus ocellatus* provenientes de Brasil, estos parásitos fueron tomados del intestino grueso. Las dimensiones de los huevos se realizaron en la hembra del parásito, mostraron las medidas compatibilidad con las halladas en esta tesis (Ver tabla 2), además de esto las medidas pueden tener similitud a la especie: *Raillietnema spectans*.

A continuación, en la figura 26 un huevo que se asemeja a esta especie.

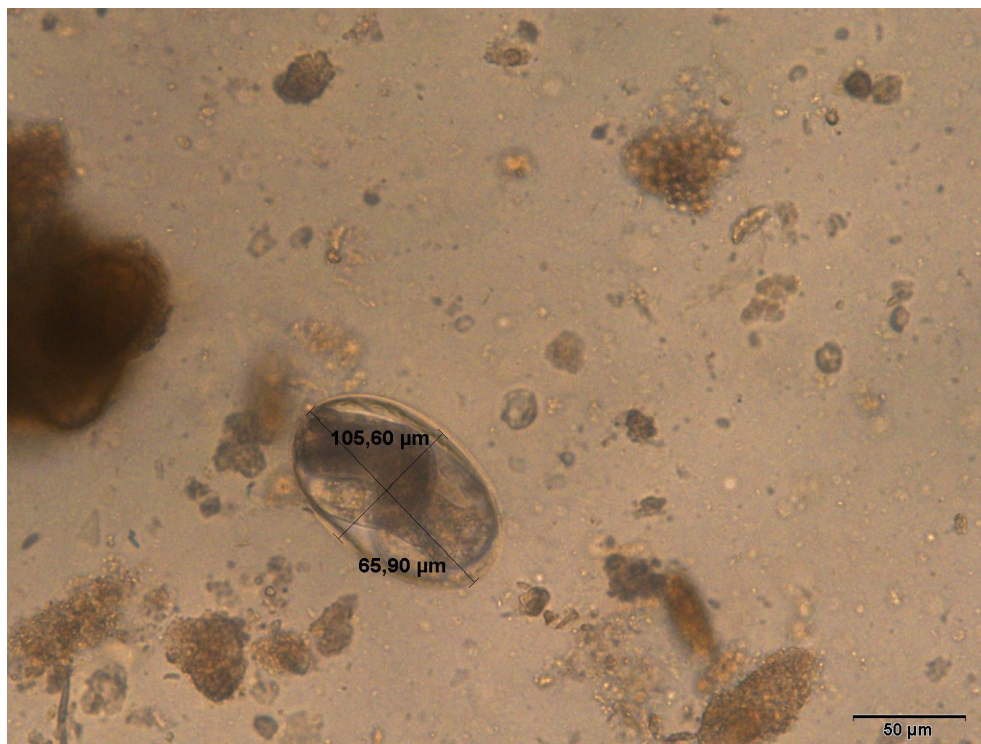


Figura 26. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Raillietnema spectans* (105,60 µm x 65,90 µm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

4.9. Género *Rhabdias*

Se encontraron dos huevos que se asemejan a este género, así mismo, una larva. Las especies de este género son mayormente encontradas en anfibios, pueden afectar especialmente en estado larvario. Son nematodos que ingresan por vía subcutánea, este género tiene un ciclo de vida directo y rápido, con un ciclo biológico variado de los cuales tiene la fase dentro del hospedero y la fase de vida libre que se desarrollan en el suelo, las larvas infectantes crecen e ingresan por la piel dirigiéndose a los pulmones para convertirse en adultos hermafroditas, los cuales producen huevos que transitan a la tráquea, van a los intestinos y finalmente son excretadas por las heces (Lhermitte-Vallarino y Bain, 2004), (Pessier y Mendelson, 2010).

En esta tesis se pudo observar varias larvas que posiblemente pertenezcan a *Rhabdias sp.* Para poder aseverar que es esta especie de deberían realizar otros métodos de identificación de parásitos en estado adulto, como lo podría ser las técnicas moleculares.

Además, Vicente, Rodrigues, Gomes y Pinto (1991) encontraron al parásito en el pulmón de un anuro de especie *Bufo rufus* proveniente de Brasil y describen las medidas de los huevos dentro de la hembra. Estas medidas pueden ser semejantes a las que se encontraron en esta tesis y tener compatibilidad a la especie: *Rhabdias elegans*.

En otra investigación por Gonzáles y Hamann (2016) encontraron en un anuro de especie *Rhinella schneideri* proveniente de Argentina, localizaron a este parásito en pulmón, así mismo, Mcallister, Bursey y Freed (2010) reportaron el parásito en un anuro de especie *Hypsoboas lanciformis* proveniente de Ecuador localizado en el mismo órgano.

Así mismo, Gonzáles y Hamann (2008) encontraron los parásitos en catorce especímenes de la especie *Rhinella schneideri* provenientes de Argentina. Estas medidas se asemejaron a las encontradas en esta tesis y mostraron compatibilidad con la especie: *Rhabdias fuelleborni*.

A continuación, se observa en la figura 27 una larva que puede asemejarse a *Rhabdias* sp. Además de esto, se observa en la figura 28 y 29 huevos que puede asemejarse a esta especie de parásito.



Figura 27. Larva que puede ser compatible al género *Rhabdias* sp. Identificación con lente 20x



Figura 28. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Rhabdias elegans* (95,69 μm x 52,48 μm). Se identifica un huevo larvado. Identificación con lente 20x.

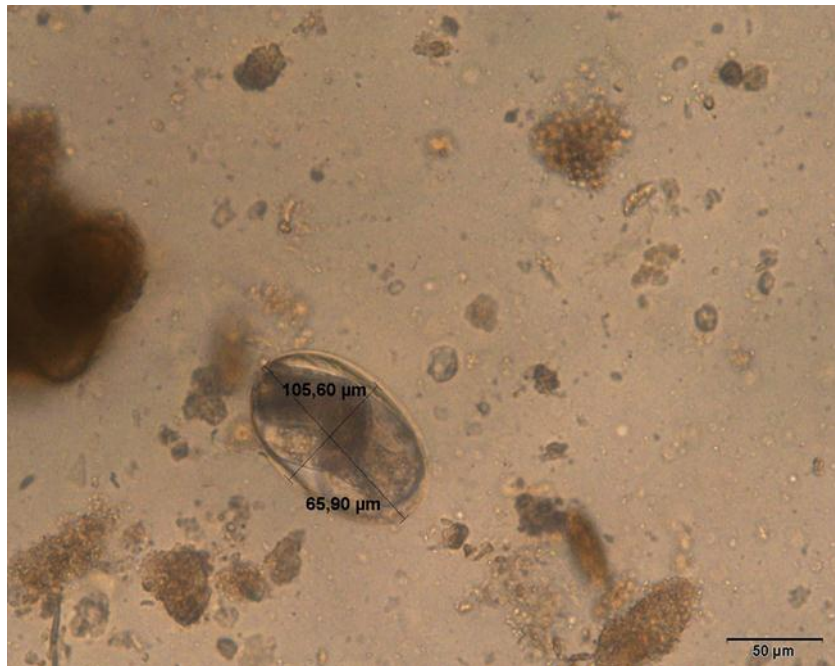


Figura 29. Huevo compatible por sus dimensiones a la especie *Rhabdias fuelleborni* (105,60 μm x 65,90 μm). Se identifica un huevo larvado, identificación con lente 20x.

4.10. Género *Strongyloides*

No fue posible asemejar especies para este género que concuerden con las medidas encontradas, se hallaron pocos estudios que describan a este género con las dimensiones, los que se encontraron no tienen semejanza alguna.

Pese a esto, se encontró en el “A manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian” de Pessier y Mendelson (2010) una medida general del largo de los huevos de este género: 40 a 55 μm , las medidas se asemejan a las encontradas en esta tesis (Ver tabla 10).

Así mismo, Navarro, Llunch y Izquierdo (1989) encontraron pequeñas larvas, dándonos como referencia que para este género las medidas de los huevos a comparación de otros géneros son más pequeños, pero con métodos comunes es difícil identificar a estas larvas.

Cando (2017) realizó un estudio en anfibios de especie *Gastrotheca pseustes* y *Gastrotheca litonedis* en el mismo lugar de este trabajo de tesis, describió

lesiones en el epitelio de la mucosa del intestino grueso, tenían formas de larvas enquistadas que se asemejaban a *Strongyloides sp.*

A continuación, se muestra en la tabla 10 las medidas encontradas y en la figura 30 se observa uno de los huevos que se asemejan a este género.

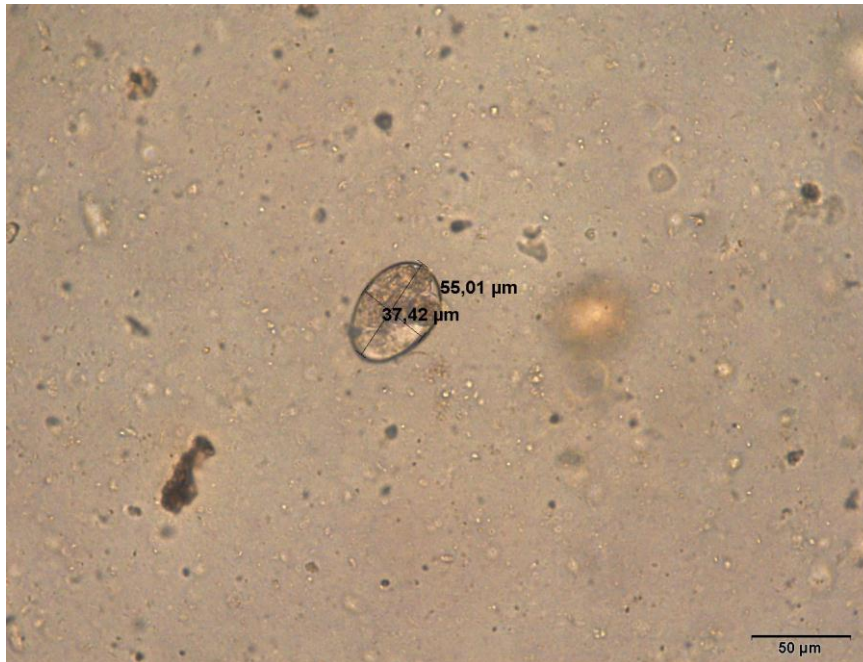


Figura 30. Huevo que se asemeja a *Strongyloides* con sus medidas (55,01 µm x 37,42 µm). Se identifica un huevo larvado con pared delgada, Identificación con lente 20x

4.11. Correlaciones y regresiones

En este análisis intervienen como variable dependiente la carga parasitaria en gramos, y como variable independiente el peso en gramos. El resultado de las regresiones muestra la no relación directa entre carga parasitaria y el peso, se obtiene una función que es igual a una correlación lineal ($R^2= 0,049$) dentro del plano cartesiano, carga parasitaria y tamaño de largo recto boca-cloaca ($R^2=0,080$) y carga parasitaria con tiempo en cautiverio ($R^2= 0,087$) (Ver figuras 31, 32, 33).

Existen varios estudios en las relaciones de la carga parasitaria con el peso y medidas morfométricas de los hospedadores, sin embargo, estos registros se

los realizó en animales capturados directamente de su hábitat natural (Rodríguez, 2015), y se han realizado investigaciones en cuanto a que si existe relación entre la carga parasitaria con el peso y tamaño en animales no cautivos (Barrera, 2017), (Gómez, 2013).

En esta tesis lo que influye como un elemento significativo es la población pequeña o el poco conjunto de muestreos que se obtuvo, el ambiente, la nutrición de los animales y el manejo podrían ser un factor que influya entre la relación de las variables. En esta tesis no se tomó en cuenta la cantidad de especies de parásitos por animal, es por eso que no se conoce si existe relación entre la cantidad de especies de parásitos y el tamaño, sin embargo, no se encontró relación entre la carga parasitaria y el tamaño.

4.11.1. Carga parasitaria y peso

En la figura 31 se observa que no existe una relación positiva y que, además, es no significativa entre el peso promedio de los individuos de *Gastrotheca litonedis* y la carga parasitaria del *pool* de la muestra. El resultado fue de $R^2=0,08$ y un *p value* mucho mayor a 0.05. Esto sugiere que la carga parasitaria encontrada en el *pool* es poco independiente del peso promedio de los especímenes.

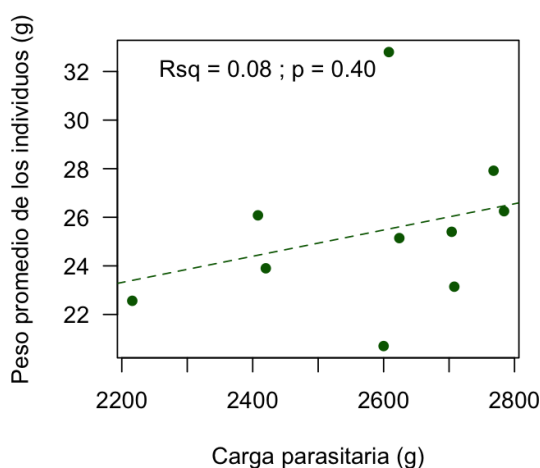


Figura 31. Regresión lineal entre variables, carga parasitaria y peso promedio de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.

4.11.2. Carga parasitaria y largo recto boca-cloaca

En la figura 32 se observa una relación ligeramente negativa pero no significativa entre el largo recto boca-cloaca con la carga parasitaria ($R^2=0,030$, $p > 0.05$). Esto indica la independencia de la carga parasitaria con la morfometría de los especímenes.

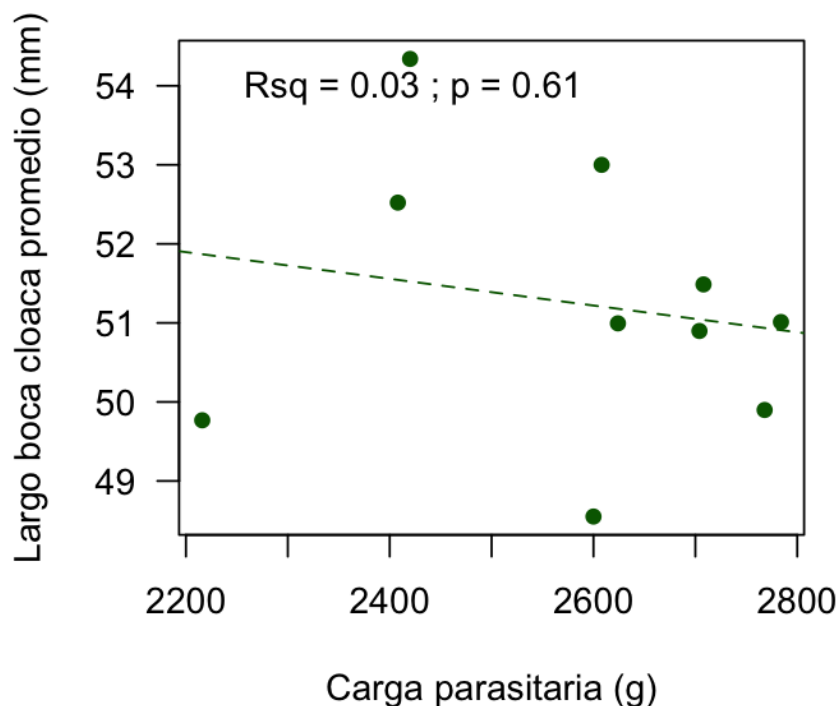


Figura 32. Regresión lineal entre variables. Carga parasitaria y largo promedio boca-cloaca de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.

4.11.3. Carga parasitaria y tiempo en cautiverio

En la figura 33 se observa que un $R^2=0,003$ y un $p=0.87$, las variables no se encuentran en relación, nos indica que los días en cautiverio no dependen de la carga parasitaria. Tomando en cuenta para establecer si existe o no relación entre ambas variables es necesario la realización de un aumento en los muestreos y una mayor población de animales.

Los animales que se someten a cautividad tienen una mayor tendencia a contraer otras patologías, se menciona que animales hacinados en espacios muy reducidos, poco manejo de la higiene y dietas que son modificadas hacen que estos animales se les provoque estrés que conlleva a carencias en su inmunidad. Esto conlleva a que adquieran varios agentes patógenos como pueden ser los parásitos (García, et al., 2013), (Rodríguez, 2015).

En referencia a este estudio y con la relación que se obtuvo en cuanto a los resultados en la población de *Gastrotheca litonedis*, nos hace argumentar que las condiciones que se les proporciona en cautividad son apropiadas. A pesar de esto, conviene que se tome en cuenta los factores que se han mencionado para evitar que los animales experimenten interferencias en sus comportamientos el cual les facilite adquirir problemas de parasitosis y les cause la muerte.

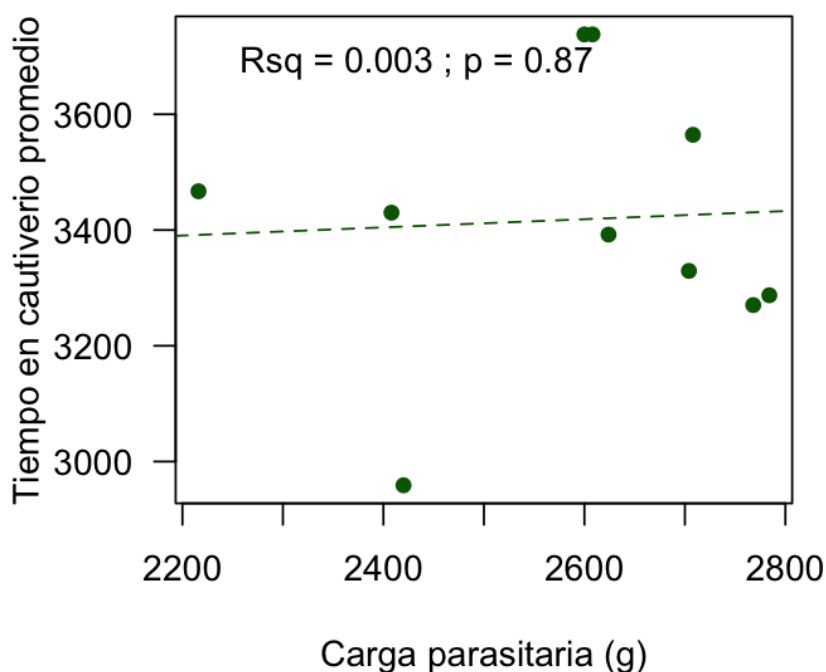


Figura 33. Regresión lineal entre variables. Carga parasitaria y el tiempo promedio en cautiverio de los individuos. Línea punteada indica la dirección de la relación, la relación no es significativa.

4.12. Limitaciones del estudio

Uno de los limitantes que se tuvo en este estudio fue la escasa cantidad de animales para ser analizados y el tamaño de los animales, es por eso que el número de muestras fue limitado. Debido a que el estudio se limitó a la disponibilidad de animales que se encuentra en la Balsa de Los Sapos, se optó por el método de heces en *pool* del total de animales.

La parte económica fue otro limitante que se presentó en este trabajo y es por eso que no se pudo realizar técnicas moleculares que nos permita obtener resultados más acertados. Con estos resultados se podría saber con exactitud la cantidad de parásitos y a su vez los géneros y especies que se encuentren en el hospedador y menores riesgos en cuanto a la manipulación de las muestras y estas puedan contaminarse.

5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

En esta investigación se ejecutaron análisis coprológicos en anfibios en su estado natural y se realizaron varios métodos usados en parasitología veterinaria de fácil acceso. No se han reportado investigaciones de huevos de nemátodos gastrointestinales en anfibios que hayan realizado las mediciones en huevos directamente de las heces.

Se registró los géneros con mayor frecuencia de aparición por sus dimensiones del más frecuente al menos frecuente, *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Strongyloides*, *Oswaldocruzia*, *Oxyascaris*, *Rhabdias*, *Pteroxyascaris*, *Falcaustra* y *Railletnema*.

Se observó que las variables entre peso, tamaño morfométrico y tiempo en cautiverio no se encuentran relacionadas con la carga parasitaria, se necesita un trabajo más a fondo para efectuar estudios parasitológicos en anuros que estén bajo condiciones de cautiverio. No se evidenció que los animales hayan estado enfermos lo que nos da una idea que la carga parasitaria puede ser normal en anfibios en cautiverio, a pesar de ello, es necesario que se investigue más a fondo la carga normal de parásitos nemátodos en esta especie de anuro.

5.2. Recomendaciones

Es importante que se realice más estudios en cuanto a la parasitología en anfibios, pocos son los estudios que cuenta el Ecuador de parásitos en anuros que son mantenidos en cautiverio, todos los animales nuevos que ingresan al centro deben pasar por cuarentena y se debe tomar muestras de heces para ser analizados por médicos veterinarios. Tomando estas medidas se puede evitar el contagio a la población.

Es necesario realizar técnicas moleculares en anfibios mantenidos en cautiverio, varios huevos encontrados no se consiguieron identificar ya que no

se logró encontrar bibliografía. La implementación de técnicas moleculares es necesario que nos dé a conocer con exactitud si los parásitos que se registraron corresponden a los que se encontró en estos animales.

Las buenas prácticas de manejo como son la nutrición, temperatura, instalaciones adecuadas son componentes definitivos para animales que se encuentra en cautividad, y así, tengan una buena calidad de vida, por eso es importante que se dé prioridad a estos temas y se investigue a profundidad para así poder implementar un calendario de desparasitación y con eso saber el estado sanitario en centros de cautiverio.

Es necesario que se realice más estudios en relación a la carga parasitaria normal en estas especies y si hay relación que parásitos nemátodos y otras especies podrían estar causando síndrome de edema en los animales de estudio.

Con todo el análisis de esta tesis se aporta con el conocimiento de parásitos que podrían afectar a esta especie y se presenta las bases para poder realizar estudios posteriores que profundicen en este tema.

REFERENCIAS

- Aguiar, M. G. (2013). *Influencia de la dieta y la temperatura en el crecimiento de renacuajos durante los estadios 21, 22, 23, 26, 32, 38 y en estadio juvenil de la rana Ceratophrys Stolzmanni en laboratorio*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Aguilar, R., Hernández, M. S., Divers, J. S., Perpiñán, D. (2010). *Atlas de Medicina de Animales Exóticos*. (2 ed.). Buenos Aires, Argentina: Inter-médica.
- Avendaño, C., Amaya, Á., y Bayona, M. (2010). *Caracterización Epidemiológica de la Criptosporidiosis en Bovinos en la Región Sabana Centro (Cundinamarca)*. U.D.C.A Act. & Div.Cient, XIII (2),109-116. Recuperado el 26 de abril del 2018 de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a13.pdf>
- Baker, M. (1980). *Revision of Old World species of the genus Aplectana Railliet & Henry, 1916 (Nematoda, Cosmocercidae)*. Laboratorio de Zoologie, II (4), 955-998.
- Barrera, M. (2017). *Relación de la carga parasitaria de Trypanosoma cruzi con el estado de desarrollo, peso, abdominal y tamaño del vector silvestre Mepraia spinolai*. Chile: Universidad de Chile. Recuperado el 26 de abril del 2018 de <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/145024>
- Bowman, D. (2004). *Georgis parasitology for veterinarians* (8 ed.). Madrid: Elsevier.
- Cando, P. (2017). *Caracterización histopatológica de órganos del tracto gastrointestinal en ranas de la especie Gastrotheca spp. Afectadas por el síndrome de edema dentro del centro balsa de los sapos*. Quito: Universidad de las Américas.
- Chasiluisa, V., Coloma, L. A., Frenkel, C. & Félix-Novoa, C. 2017. *Gastrotheca litonedis*. (2017). *AmphibiaWebEcuador*. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado el 12 de marzo de 2018 de

<https://multimedia20stg.blob.core.windows.net/documents/AnfibiosMatorralInterandinoFinal.pdf>

- Cordero del Campillo, M., Sánchez, C., Navarrete, I., Díez, P., Quiroz, H., & Carvalho, M. (1999). *Parasitología veterinaria*. Madrid: McGraw Hill Interamericana.
- Dryden, M., Payne, P., Ridley, R., y Smith, V. (2006). *Gastrointestinal Parasites. The Practice Guide to Accurate Diagnosis and Treatment*. Kansas, State University. Recuperado el 18 de abril de 2018, de http://www.idexx.de/pdf/de_de/smallanimal/education/client-education/gastrointestinal-parasites-guide_us.pdf
- Duellman, W. E., y Hills, D. M. (1987). *Marsupial frogs (Anura: Hylidae: Gastrotheca) of the Ecuadorian Andes: resolution of taxonomic problems and phylogenetic relationships*. *Herpetologica*, VI (43), 141-173.
- F.E.G., Cox. (1971). *Parasites of British Amphibians*, *Journal of Biological Education*. *Journal of Biological Education*, V (1), 35-51. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00219266.1971.9653665>
- Figuroa, J. A., Villazul, C. J., Hernández, E. L., Martínez, P., Rodríguez, R. I. y Zárata, J. J. (2015). *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria*. Capítulo 3. *Examen Coproparasitoscópico*. Recuperado el 18 de abril del 2018, de https://www.researchgate.net/profile/Roger_Ivan_Rodriguez_Vivas
- García, D. J., Sánchez, O. J., Pulido, M. O., & Andrade, R. J. (2013). *Identificación de parásitos gastrointestinales en aves silvestres en cautiverio*. *Revista científica*, Vol. XXIII, 254-255 Recuperado el 18 de abril del 2018 de <http://www.redalyc.org/pdf/959/95926665004.pdf>
- Gonzáles, C. E., & Hamann, M. I. (2008). *Nematode parasites of two anuran species *Rhinella schneideri* (Bufonidae) and *Scinax acuminatus* (Hylidae) from Corrientes, Argentina*. *Revista de Biología Tropical*, IV (56), 2147-2161.
- Gonzáles, C. E., Quiroga, L. B., Moreno, D., y Sanabria, E. A. (2013). *Primer registro de *Aplectana hylambatis* (Nematoda, Cosmocercidae) para*

- anfibios de la provincia de San Juan. Cuadernos de herpetología*, I (27).
- González, C. E., y Hamann, M. (2016). *Nematode Parasites of Leptodactylus elenae and Leptodactylus podicipinus (Anura: Leptodactylidae). Corrientes, Argentina*, I (83), 117-121. Recuperado el 28 de abril de <https://doi.org/10.1654/1525-2647-83.1.117>
- Iannacone, J., y Manyari, G. M. (2007). *Enterobacterias y Protozoarios parásitos asociados al renacuajo de la Rana de Junín Batrachophrynus macrostomus (Anura: Leptodactylidae)*. *Revista de ciencias (Lima)*. 4. 25-51. Recuperado el 28 de abril del 2018 de <https://www.researchgate.net/publication/262918670>
- Lhermitte-Vallarino, L., y Bain, O. (2004). *Morphological and Biological Study of Rhabdias spp. (Nematoda) from African Chameleons with Description of a New Species*. *XI* (1), 15-31. <https://doi.org/10.1051/parasite/200411115>
- Mayer, J., y Donnelly, T. (2013). *Clinical veterinary advisor, Birds an Exotic Pets: Clinical Veterinary Advisor* (1ed.). United States of America: Saunders Elsevier.
- Mcallister, C. T., Bursey, C. R., y Freed, P. S. (2010). *Helmint Parasites of Selected Amphibians and Reptiles from Republic of Ecuador. Comparative of Parasitology*, I (77), 52-66. doi: <https://doi.org/10.1654/4402.1>
- Mehlhorn, H., y Piekarski, G. (1993). *Fundamentos de parasitología. Parásitos del hombre y de los animales domésticos*. (3 ed.). Zaragoza, España: Acribia, S.A.
- Mitchell, M., y Tully, T. (2009). *Manual of Exotic Pet Practice*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Morand, S., Krasnov, B. R., Poulin, R. (2006). *Micromammals Macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. (1ed.). United States of America: Springer.
- Navarro, P., Lluch, J., & Izquierdo, S. (1989). *Strongyloides mascomai sp. N. (Strongyloididae) un nouveau Námetode parasite de Rana perezii*

- Seoane, 1885 (Amphibia: Ranidae) de L' est de L' Espagne. Annales de Parasitologie Humaine et Comparee.*, 4 (64), 315-318.
- Ortega, E. P. (2016). *Caracterización de la deformación ósea por imageneología e histopatología de anfibios de la especie Agalychnis spurrelli, dentro del centro de conservación Balsa de los Sapos*. Quito: Universidad de las Américas.
- Pessier, A. P., y Mendelson, J. R. (2010). *A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian: Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs*. Apple Valley: MN: UICN/SSD Conservation Breeding Specialist Group.
- Quiroz, H. (2013). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos* (1 ed.). México, México DF.: Limusa.
- Reyes-Puig, C., Trujillo, M. B. y Echeverría, A. (2016). *Primer registro de Ochoterenella sp. (Nematoda: Ochocercidae) en Rhinella horribilis (Anura: Bufonidae) del noroccidente del Ecuador*. (8), 37-44.
- Rodríguez, M. E. (2015). *"Identificación de parásitos intestinales presentes en reptiles en cautiverio en dos centros de manejo de fauna silvestre"*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Recuperado el 26 de abril del 2018 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6769/1/T-UCE-0014-031.pdf>
- Ron, S. R., Yanez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A. Ortiz, D. A. (2018). *Anfibios del Ecuador*. Versión 2018.0. Museo de Zoología, Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado el 24 de abril del 2018 de <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb>
- Safi, K., Armour-Marshall, K., Baillie, J. E., y Isaac, N. J. (2013). *Global patterns of evolutionary distinct and globally endangered amphibians and mammals*. *PloS one*, 8(5), doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063582>
- Slimane, B. B., Durette-Desset.M. C. (1995). *Oswaldocruzia (Nematoda, Trichostrongylina, Molineoidea) parasitic in Brazilian and Ecuadorian Amphibians, with redefinition of the type especies O. subauricularis*

- (Rudolphi, 1819) and O. mazzai Travassos, 1935. *Revue Suisse de Zoologie*, III (102), 635-653.
- Soulsby, E. (1987). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos* (7ed.). México, D.F.: Interamericana.
- Thienpont, D., Rochette, F., y Vanparijs, O. (1985). *Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico*. (2 ed.). Beerse, Bélgica.: Janssen Research Foundation.
- UICN. (2017). *The IUCN Red List of Threatened Species. Gastrotheca litonedis*. Recuperado el 28 de abril del 2018 de <http://www.iucnredlist.org/details/55342/0>
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (2001). *Parasitología veterinaria*. Zaragoza, España: Acribia, S.A.
- Vicente, J., Rodrigues, H., Gomes, D., y Pinto. (1991). *Nematóides do Brasil 2a parte: nematóides de anfíbios. Revista Brasileira de Zoologia*, VIII (4), 549-626. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-8175199000040001>

ANEXOS

ANEXO 1. Materiales

Materiales para recolección de heces:

- Mascarilla
- Guantes quirúrgicos
- Recolector estéril para muestras de heces
- Cooler
- Refrigerante
- Marcador
- Adhesivos color naranja
- Libreta
- Esfero

Materiales necesarios para efectuar mediciones morfométricas:

- Calibrador Scala®
- Balanza digital, Camry, Electronic Pocket Scale, China

Materiales para pesaje de animales

- Balanza digital,

Materiales de laboratorio necesarios para procesamiento de muestras:

- Refrigeradora Indurama®
- Balanza de precisión, marca Shimadzu Unibloc Aux220®, Shimadzu, Kioto, Japón.
- Vasos de precipitación
- Agitador de vidrio

- Agua destilada
- Jeringa de 1ml (insulina)
- Papel absorbente
- Cerdinor
- Tubos de ensayo de 10 y 20 ml con tapa roja
- Pipetas de plástico 10 ml
- Azúcar
- Rejilla para colocar los tubos de ensayo
- Centrifuga Hettich Rotofix 32A®, Estados Unidos.

Materiales para la identificación de parásitos:

- Cámara McMaster Triple Chamber Counting Slide, Chalex corporation®, Estados Unidos.
- Microscopio Olympus®, Tokio, Japón
- Cámara Olympus®, Tokio, Japón
- Programa Software Cellsens Olympus®, Tokio, Japón.

ANEXO 2. Tabla general de datos

Fecha	Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (gr)	Largo recto boca-cloaca (mm)	Fecha de Ingreso	Tiempo en cautiverio (Días)	Peso de la muestra (gr)	Cantidad de glucosa (ml)	Carga parasitaria (hpg)
06/09/2017	1590	1	Macho	41,3	48,23	13/09/2008	3280	2,65	17,22	2768
06/09/2017	1590	1	Macho	24,6	47,35	13/09/2008	3280	2,65	17,22	2768
06/09/2017	1575	1	Hembra	18,30	52,63	13/09/2008	3280	2,65	17,22	2768
06/09/2017	1575	1	Macho	27,20	49,91	13/09/2008	3280	2,65	17,22	2768
11/09/2017	1133	1	Macho	31,20	50,66	17/10/2008	3251	2,65	17,22	2768
11/09/2017	1133	1	Macho	24,90	50,61	17/10/2008	3251	2,65	17,22	2768
11/09/2017	1683	1	Macho	20,70	48,55	16/06/2007	3740	1,92	12,48	2216
11/09/2017	1683	1	Macho	21,20	47,07	16/06/2007	3740	1,92	12,48	2216
11/09/2017	1678	1	Macho	26,01	49,44	13/09/2008	3285	1,92	12,48	2216
11/09/2017	1678	1	Macho	18,30	52,66	13/09/2008	3285	1,92	12,48	2216
11/09/2017	1678	1	Macho	26,60	51,12	13/09/2008	3285	1,92	12,48	2216
19/09/2017	1593	1	Hembra	24,80	58,69	S/I	S/I	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1684	1	Macho	27,40	51,52	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1132	1	Hembra	21,20	37,62	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1669	1	Hembra	36,20	54,62	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1590	1	Macho	41,30	48,23	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1590	1	Macho	24,6	47,35	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1575	1	Hembra	18,30	52,63	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1575	1	Macho	27,20	49,91	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1133	1	Macho	26,30	50,66	17/10/2008	3259	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1133	1	Macho	31,20	50,61	17/10/2008	3259	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1678	1	Macho	24,90	49,44	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1678	1	Macho	26,01	52,66	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	1678	1	Macho	18,30	51,12	13/09/2008	3293	3,14	20,41	2784
19/09/2017	720	1	Hembra	19,80	59,1	S/I	S/I	3,14	20,41	2784
26/09/2017	1130	1	Hembra	24,80	49,63	13/09/2008	3300	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1593	1	Hembra	27,40	58,69	S/I	S/I	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1686	1	Hembra	24,30	59,92	16/06/2007	3755	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1686	1	Macho	41,30	46,08	16/06/2007	3755	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1678	1	Macho	26,60	51,12	13/09/2008	3300	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1237	1	Macho	18,80	49,16	S/I	S/I	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1085	1	Macho	23,90	52,75	S/I	S/I	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1681	1	Hembra	27,90	56,02	13/09/2008	3300	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1137	1	Macho	24,90	52,32	13/09/2008	3300	2,43	15,80	2408
26/09/2017	1137	1	Macho	20,90	49,53	13/09/2008	3300	2,43	15,80	2408
04/09/2017	1807	1	Macho	34,70	62,85	29/07/2009	2959	1,46	22,49	2420
04/09/2017	1650	1	Macho	19,10	53,4	S/I	S/I	1,46	22,49	2420
04/09/2017	1375	1	Hembra	17,90	46,77	S/I	S/I	1,46	22,49	2420
09/09/2017	1686	1	Hembra	24,30	59,92	16/06/2007	3738	2,36	15,34	2608
09/09/2017	1686	1	Macho	41,30	46,08	16/06/2007	3738	2,36	15,34	2608
09/09/2017	1683	1	Macho	20,70	48,55	16/06/2007	3738	3,02	19,63	2600
16/10/2017	1130	1	Hembra	24,80	49,63	13/09/2008	3320	1,08	26,52	2624
16/10/2017	1593	1	Hembra	24,80	58,69	S/I	S/I	1,08	26,52	2624
16/10/2017	1132	1	Hembra	21,20	37,62	13/09/2008	3320	1,08	26,52	2624

24/10/2017	1669	1	Hembra	36,20	54,62	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1478	1	Macho	27,10	50,33	05/09/2008	3336	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1686	1	Hembra	21,40	59,92	16/06/2007	3783	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1686	1	Macho	24,30	46,08	16/06/2007	3783	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1575	1	Hembra	18,30	52,63	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1575	1	Macho	27,20	49,91	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1133	1	Macho	26,30	50,66	17/10/2008	3294	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1133	1	Macho	31,20	50,61	17/10/2008	3294	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1678	1	Macho	24,90	49,44	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1678	1	Macho	26,01	52,66	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
24/10/2017	1678	1	Macho	18,30	51,12	13/09/2008	3328	1,08	26,52	2624
02/11/2017	1130	1	Hembra	24,80	49,63	13/09/2008	3337	3,08	20,02	2708
02/11/2017	1593	1	Hembra	27,40	58,69	S/l	S/l	3,08	20,02	2708
02/11/2017	1684	1	Macho	19,40	51,52	13/09/2008	3337	3,08	20,02	2708
02/11/2017	1683	1	Macho	20,70	48,55	16/06/2007	3792	3,08	20,02	2708
02/11/2017	1683	1	Macho	21,20	47,07	16/06/2007	3792	3,08	20,02	2708
02/10/2017	1669	1	Hembra	27,10	54,62	13/09/2008	S/l	3,08	20,02	2708
02/10/2017	1478	1	Macho	21,40	50,33	05/09/2008	S/i	3,08	20,02	2708
08/11/2017	1133	1	Macho	31,20	50,66	17/10/2008	3309	2,94	19,11	2704
08/11/2017	1133	1	Macho	24,90	50,61	17/10/2008	3309	2,94	19,11	2704
08/11/2017	1678	1	Macho	26,01	49,44	13/09/2008	3343	2,94	19,11	2704
08/11/2017	1678	1	Macho	18,30	52,66	13/09/2008	3343	2,94	19,11	2704
08/11/2017	1678	1	Macho	26,60	51,12	13/09/2008	3343	2,94	19,11	2704

ANEXO 3. Tabla general de identificación

Especie	Largo	Largo	Ancho	Ancho	Organos	Descripcion	País	Referencia
<i>Aplectana chamaeleonis</i>	55	75	40	50	No se detalla	No se detalla	París	Revision of Old World species of the genus <i>Aplectana</i> Railliet & Henry, 1916 (Nematoda. Cosmocercidae)
	68	94	46	58	Intestino grueso y delgado	No se detalla	París	Revision of Old World species of the genus <i>Aplectana</i> Railliet & Henry, 1916 (Nematoda. Cosmocercidae)
<i>Aplectana hylambatis</i>	83	85	36	43	Intestino grueso y delgado	No se detalla	Argentina	Primer registro de <i>Aplectana hylambatis</i> para anfibios de la provincia de San Juan (González, Quiroga, Moreno, Sanabria, 2013)
	83	102	50	63	Intestino grueso y delgado	No se detalla	Argentina	Primer registro de <i>Aplectana hylambatis</i> para anfibios de la provincia de San Juan (González, Quiroga, Moreno, Sanabria, 2013)
	78	100	53	60	Intestino grueso y delgado	No se detalla	Argentina	Primer registro de <i>Aplectana hylambatis</i> para anfibios de la provincia de San Juan (González, Quiroga, Moreno, Sanabria, 2013)
<i>Aplectana macintoshii</i>	71	102	48	80	Algunos huevos contienen una larva completamente desarrollada	No se detalla	París	Revision of Old World species of the genus <i>Aplectana</i> Railliet & Henry, 1916 (Nematoda. Cosmocercidae)
<i>Aplectana delirae</i>	49	66	35	55	Intestino grueso	No se detalla	Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Oliveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Cosmocerca parva</i>	91	103	57	71	Intestino grueso	No se detalla	Argentina	Nematode parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
	112	112	62	62	Intestino	No se detalla	Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Oliveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	92	108	55	76	Pulmón, intestino grueso	No se detalla	Argentina	Nematoides parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
<i>Falcaustra mascula</i>	53	53	39	39	Intestino grueso	No se detalla	Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Oliveira, Correa

								y Magalhaes, 1991)
<i>Oswaldocruzia lopesi</i>	80	92	50	59	Intestino delgado		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Oswaldocruzia mazzai</i>	80	88	46	56	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Oxyascaris caudacutus</i>	69	103	46	62	Intestino delgado y grueso	Huevos ovalados, con cubierta fina y larvada	Argentina	Nematode parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
<i>Oxyascaris oxyascaris</i>	76	105	50	63	Intestino delgado y grueso		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Pteroxyascaris caudacutus</i>	67	80	42	50	Intestino delgado		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Raillietnema spectans</i>	99	130	53	73	Intestino grueso		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Rhabdias elegans</i>	91	112	52	59	Pulmón	Huevos ovalados, con cubierta fina y larvada	Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Strongyloides spp.</i>	40	55			Heces			IMLS amphibian disease manual (Pessier,2009) Strongyloidiasis in a cope grey tree frog (Patterson-Kan, Eckerlin, Lyons y Jewell, 2001). Strongyloides mascomai sp. Un nouveau parasite de Rana perezii del est de espagne (Navarro lunch, Izquierdo, 1989)

