



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE DE LA PATAGONIA**

**CARACTERIZACIÓN DE HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN
ÓRGANOS DE MAMÍFEROS MARINOS RECIBIDOS EN LA UNIDAD DE
MORFOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE LA UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIÁN, SEDE DE LA PATAGONIA EN EL PERIODO 2014 -
2023**

MEMORIA DE TÍTULO PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

Profesor guía: Dr. Frank Alexis Vera Otárola

Estudiante: Gabriel Jesús Fernández Maureira

Puerto Montt, Chile

2024

DERECHO DE AUTOR

© Gabriel Jesús Fernández Maureira

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Puerto Montt; Chile

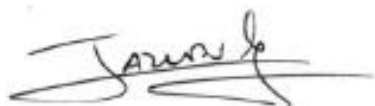
2024

HOJA DE CALIFICACIÓN

En Puerto Montt, el 19 de junio de 2024, los abajo firmantes dejan constancia que el (la) estudiante Gabriel Jesús Fernández Maureira de la carrera de Medicina Veterinaria ha aprobado su memoria de título para optar al grado de Médico Veterinario con una nota de 6,9



Dr. Frank Vera



Dra. Jazmín Muena



Dr. Luis Miguel Flores

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis padres, cuyo amor incondicional, sacrificio y apoyo constante han sido la base de todos mis logros. Su confianza en mí ha sido una fuente inagotable de motivación y fuerza. A mis hermanos, por su constante ánimo y compañerismo. Han sido una fuente de motivación y apoyo emocional en los momentos más desafiantes.

Al profesor Frank Vera, mi más sincero agradecimiento por ser un gran mentor y guía durante toda mi carrera. Su pasión por la patología y su dedicación a la enseñanza me han mostrado lo fascinante que es esta disciplina. Gracias a sus conocimientos y orientación, he podido crecer tanto académica como personalmente.

A la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario, les agradezco enormemente por el apoyo brindado en esta investigación. Su respaldo ha sido fundamental para el desarrollo de este estudio y ha permitido que este trabajo sea posible.

Una mención especial a la TM Jeraldine Poveda, cuyo apoyo y conocimiento fueron cruciales en este proyecto. Sin su ayuda, el desarrollo de este estudio no hubiera sido posible. Su profesionalismo y disposición para colaborar han sido invaluable.

Finalmente, y no menos importantes, a mis compañeros, quienes con su apoyo incondicional han contribuido significativamente a mi crecimiento académico y personal. Les agradezco por estar siempre presentes, brindando ánimo y compartiendo esta experiencia.

TABLA DE CONTENIDO

DERECHO DE AUTOR	I
HOJA DE CALIFICACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
TABLA DE CONTENIDO	IV
ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. MAMÍFEROS MARINOS EN CHILE	4
1.2. PATOLOGÍAS DESCRITAS EN MAMÍFEROS MARINOS	4
1.3. ENFERMEDADES INFECCIOSAS	5
1.4. PATOLOGÍAS NO INFECCIOSAS	8
1.5. HISTOPATOLOGÍA COMO TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO	10
1.6. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	10
2. HIPOTESIS	11
3. OBJETIVOS	11
3.1. OBJETIVO GENERAL	11
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS	12
4.1. MATERIAL	12
4.2. ANIMALES	12
4.3. INFORMES DE NECROPSIA	13
4.4. MUESTRAS DE TEJIDOS	13
4.5. EQUIPO, MATERIAL E INSTRUMENTAL	13
4.6. NECROPSIAS	13
4.7. OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	14
4.8. PROCESO HISTOPATOLÓGICO	14
4.8.1. <i>Fijación de la muestra</i>	14
4.8.2. <i>Inclusión de la muestra</i>	15
4.8.3. <i>Microtomía</i>	15
4.8.4. <i>Desparafinación</i>	16
4.8.5. <i>Tinción</i>	16
4.8.6. <i>Deshidratación y Montaje</i>	16
4.9. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	16
4.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
5. RESULTADOS	19
OBJETIVO 1: IDENTIFICAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN ÓRGANOS DE MAMÍFEROS MARINOS RECIBIDOS POR LA UNIDAD DE MORFOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO VETERINARIO.	19
OBJETIVO 2: RELACIONAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS, CON PATOLOGÍAS DESCRITAS EN LA LITERATURA.	34

OBJETIVO 3: COMPARAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN LOS ÓRGANOS DE EJEMPLARES DE PINNÍPEDOS CON LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN LOS ÓRGANOS DE EJEMPLARES DE CETÁCEOS. _____ 37

6. DISCUSIÓN	50
7. CONCLUSIONES	55
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
9. ANEXOS	63
9.2 ANEXO 1. ADAPTACIÓN DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE “MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA VETERINARIA”, POR J. MUENA, Y F. VERA, 2021.	63
10.2 ANEXO 2. EJEMPLOS DE VARIABLES QUE SE CONSIDERARAN PARA EL ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.	67
11.2 ANEXO 3. SCORE PINNÍPEDOS.	70
12.2 ANEXO 4. SCORE CETÁCEOS	72

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. ESPECIES PRESENTES EN ESTE ESTUDIO.	12
TABLA 2. GRADUACIÓN DE HISTOSCORE PARA INFLAMACIÓN.	17
TABLA 3. GRADUACIÓN DE HISTOSCORE PARA NECROSIS.	17
TABLA 4. GRADUACIÓN DE HISTOSCORE PARA TRASTORNOS CIRCULATORIOS.	17
TABLA 5. GRADUACIÓN DE HISTOSCORE PARA TRASTORNOS DEGENERATIVOS.	18
TABLA 6. GRADUACIÓN DE HISTOSCORE PARA TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO CELULAR.	18
TABLA 7. TABLA COMPARATIVA DE HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS Y BIBLIOGRAFÍA QUE DESCRIBE HALLAZGOS ASOCIADOS A PATOLOGÍAS DE MAMÍFEROS MARINOS.	34
TABLA 8. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN PULMÓN DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	37
TABLA 9. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN RIÑÓN DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	38
TABLA 10. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE TRASTORNOS CIRCULATORIOS EN HÍGADO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	39
TABLA 11. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN HÍGADO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	40
TABLA 12. PRESENTACIÓN DE NECROSIS POR ÓRGANOS DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	41
TABLA 13. PRESENTACIÓN DE DEGENERACIÓN MUCOSA EN INTESTINO Y ESTÓMAGO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	42
TABLA 14. PRESENTACIÓN DE HIPERPLASIA DE PULPA BLANCA Y PULPA ROJA EN BAZO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	43
TABLA 15. PRESENTACIÓN DE INFLAMACIÓN POR ÓRGANOS DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. TRASTORNOS CIRCULATORIOS DE ENCÉFALO, PULMÓN Y NÓDULO LINFÁTICO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	19
FIGURA 2. PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DE TIPOS DE INFILTRADOS INFLAMATORIOS OBSERVADOS.. _____	21
FIGURA 3. TRASTORNOS DE TIPO INFLAMATORIO EN MUESTRAS DE PULMÓN, ESTÓMAGO, INTESTINO Y BAZO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	22
FIGURA 4. PORCENTAJE DE ESPECIES CON PRESENCIA DE NEUMONÍA VERMINOSA. _____	23
FIGURA 5. PARASITOSIS EN PULMÓN DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	24
FIGURA 6. HALLAZGOS DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN PINNÍPEDO.. _____	25
FIGURA 7. TRASTORNOS NECRÓTICOS EN PULMONES E HÍGADOS ESTUDIADOS DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _	26
FIGURA 8. TRASTORNOS DEGENERATIVOS EN RIÑÓN, HÍGADO E INTESTINO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	28
FIGURA 9. MUESTRAS DE BAZO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	30
FIGURA 10. PRESENTACIÓN DE AUTÓLISIS EN ÓRGANOS ESTUDIADOS DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	31
FIGURA 11. PRESENTACIÓN DE ENFISEMA POR ESPECIES EN MUESTRAS DE PULMÓN. _____	32
FIGURA 12. OTROS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS VISTOS EN ÓRGANOS DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	33
FIGURA 13. PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DE INFILTRADO INFLAMATORIO EN PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	45
FIGURA 14. HISTOSCORE DE CONGESTIÓN EN HÍGADO Y PULMÓN EN PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	46
FIGURA 15. HISTOSCORE DE TUMEFACCIÓN TURBIA Y DEGENERACIÓN GRASA EN HÍGADO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	47
FIGURA 16. HISTOSCORE DE DEGENERACIÓN MUCOSA EN INTESTINO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	48
FIGURA 17. HISTOSCORE DE HIPERPLASIA DE PULPA BLANCA EN BAZO DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	48
FIGURA 18. HISTOSCORE DE INFLAMACIÓN EN ESTÓMAGO Y PULMÓN DE PINNÍPEDOS Y CETÁCEOS. _____	49

RESUMEN

La investigación presentada en esta memoria de título se enfoca en los mamíferos marinos y sus patologías, un tema de gran importancia debido a la creciente preocupación por la salud y conservación de estos animales. Los mamíferos marinos son indicadores clave de la salud de los ecosistemas marinos, y su estudio permite detectar problemas ambientales que también pueden afectar a otros organismos, incluidos los humanos. El estudio tuvo como objetivo identificar hallazgos observados en muestras de mamíferos marinos, mediante la histopatología como técnica de investigación y diagnóstico, crucial para distinguir cambios patológicos y comprender las enfermedades que afectan a estos animales, permitiendo así la evaluación del estado de salud general de estos.

Se analizaron 40 individuos de diferentes especies de mamíferos marinos y se procesaron utilizando técnicas estándar de fijación, inclusión y tinción H&E. Posteriormente, se realizaron análisis histológicos detallados para identificar lesiones. Este enfoque permitió una evaluación precisa de las patologías a nivel tisular, proporcionando datos valiosos sobre la salud de los mamíferos marinos.

Los resultados de este estudio revelaron la presencia de varios trastornos circulatorios, degenerativos, necróticos, inflamatorios y de crecimiento celular, tanto en pinnípedos como en cetáceos. Se encontraron hallazgos asociados a patologías, incluyendo infecciones bacterianas, parasitarias y virales, así como lesiones relacionadas con contaminantes ambientales. La discusión de los resultados sugiere que muchas de estas patologías están asociadas tanto a factores infecciosos como a factores antropogénicos, contribuyendo a la aparición de condiciones que implican procesos hipóxicos, los cuales se reflejan en estos hallazgos.

Este estudio destaca la importancia de la histopatología como herramienta para el diagnóstico y comprensión de las enfermedades en mamíferos marinos. Los hallazgos obtenidos proporcionan una base sólida para futuras investigaciones y acciones de conservación.

Palabras clave: Mamíferos marinos, Patologías, Histopatología.

ABSTRACT

The research presented in this dissertation focuses on marine mammals and their pathologies, a topic of great importance due to the growing concern for the health and conservation of these animals. Marine mammals are key indicators of the health of marine ecosystems, and their study allows the detection of environmental problems that can also affect other organisms, including humans. The study aimed to identify findings observed in samples of marine mammals, using histopathology as a research and diagnostic technique, crucial to distinguish pathological changes and understand the diseases that affect these animals, thus allowing the evaluation of their general health status.

Forty individuals of different marine mammal species were analyzed and processed using standard fixation, inclusion and H&E staining techniques. Subsequently, detailed histological analyses were performed to identify lesions. This approach allowed an accurate assessment of pathologies at the tissue level, providing valuable data on the health of marine mammals.

The results of this study revealed the presence of several circulatory, degenerative, necrotic, inflammatory, and cell growth disorders in both pinnipeds and cetaceans. Findings associated with pathologies were found, including bacterial, parasitic and viral infections, as well as lesions related to environmental contaminants. Discussion of the results suggests that many of these pathologies are associated with both infectious and anthropogenic factors, contributing to the occurrence of conditions involving hypoxic processes, which are reflected in these findings.

This study highlights the importance of histopathology as a tool for the diagnosis and understanding of diseases in marine mammals. The findings obtained provide a solid basis for future research and conservation actions.

Key words: Marine mammals, Pathology, Histopathology.

1. INTRODUCCIÓN

Los mamíferos marinos son un grupo diverso de mamíferos que comparten un denominador fundamental, su adaptación al entorno acuático. Aunque los mamíferos evolucionaron en tierra firme hace aproximadamente 250 millones de años, al menos siete linajes diferentes de mamíferos han regresado de manera independiente al agua. No todos estos mamíferos marinos tienen una relación cercana entre sí; sin embargo, han desarrollado adaptaciones y características físicas únicas que les otorgan la capacidad de sobrevivir y prosperar en hábitat asociados al agua (Brennecke et al., 2023). Las adaptaciones relacionadas con la optimización y la regulación de la temperatura han dado lugar a transformaciones en la morfología de los mamíferos marinos. Estos cambios abarcan la modificación de sus extremidades y apéndices para nadar, un incremento en la acumulación de grasa para mejorar el aislamiento, el desarrollo de una locomoción axial y de órganos reproductores internos (Gulland et al., 2018).

Actualmente se describen alrededor de 130 especies de mamíferos en los cuales se desarrollan en el océano durante la mayor parte o la totalidad de sus vidas. Los mamíferos marinos se distribuyen en tres órdenes taxonómicos, Cetáceos, Sirenios y Carnívoros (Brennecke et al., 2023). Dentro del orden *Carnívora* se encuentran la nutria marina, el oso polar y los pinnípedos (que engloban a las focas, lobos marinos y morsas), El orden *Cetacea* que envuelven a las ballenas, delfines y marsopas, y el orden *Sirenia* está compuesto por manatíes y dugongos (Berta et al., 2005).

Los cetáceos son el grupo más grande dentro de los órdenes taxonómicos de estos animales; existen actualmente alrededor de 90 especies conocidas, clasificadas en 13 a 14 familias, y se dividen en dos subórdenes principalmente, *Misticeti* (cetáceos barbados) y *Odontoceti* (cetáceos dentados) (Allen et al., 2011; Jefferson et al., 2015). La clasificación de este grupo se debe en gran medida a los patrones de conducta asociados a la obtención y la ingesta de alimentos, determinados por su distribución espacial, basándose en la profundidad del océano, la temperatura y las características oceanográficas (Allen et al., 2011).

Los pinnípedos comprenden una cuarta parte de la diversidad de mamíferos marinos. Existiendo aproximadamente 36 especies vivas distribuidas por todo el mundo; este grupo se conforma por tres familias; los *Otariidae* (focas orejadas o lobos marinos), *Odobenidae* (morsas) y los *Phocidae* (focas verdaderas o sin orejas) (Berta et al., 2005). La distinción principal que une a este grupo en comparación con los cetáceos es la necesidad de volver a tierra firme para algunas etapas de su ciclo vital, como el apareamiento, reproducción y muda (Jefferson et al., 2015).

1.1. Mamíferos marinos en Chile

Dentro de la lista de especies y subespecies de mamíferos marinos descritos en la actualidad (Society for Marine Mammalogy, 2023), se describen alrededor de 40 especies de cetáceos presentes en aguas chilenas (Aguayo et al., 1998), 10 especies de Pinnípedos y dos de mustélidos que habitan en el territorio y aguas nacionales (Torres et al., 2000). Según la información revisada las especies más prevalentes son: *Eubalaena australis*, *Balaenoptera physalus*, *B. borealis*, *B. musculus*, *Megaptera novaeangliae*, *Physeter macrocephalus*, *Kogia sinius*, *Mesoplodon layardii*, *Orcinus orca*, *Globicephala melas*, *Lageraorhynchus cruciger*, *L. australis*, *L. obscurus*, *Cephalorhynchus commersonii*, *C. eutropia*, *Tursiops truncatus*, *Phocoena spinipinnis*, *Mirounga leonida*, *Hydurga leptonyx*, *Arctocephalus australis*, *A. gazella*, *A. philippi*, *Otaria flavescens*, *Lontra felina*, *L. provocax* (Aguayo et al., 2006; D'Elía et al., 2020; Seguel y Pavés, 2018; Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, 2019).

1.2. Patologías descritas en Mamíferos Marinos

Al estudiar las patologías específicas y los patrones de aparición de enfermedades en un grupo de animales, podemos obtener una idea no sólo de los peligros del medio ambiente, sino también de la fisiología básica del organismo (Wursig et al., 2017). Los mamíferos marinos, como cualquier otro animal, pueden experimentar una diversidad de enfermedades que tienen la capacidad de afectar gravemente su bienestar, ocasionando dolor, sufrimiento e incluso la muerte, lo que conlleva implicaciones negativas para toda la población. Estas patologías pueden originarse por múltiples

motivos, que abarcan desde infecciones virales, bacterianas y parasitarias hasta factores no infecciosos, como la exposición a toxinas, traumas o incluso el estrés (Brennecke et al., 2023).

1.3. Enfermedades Infecciosas

A lo largo de su vida en los océanos, los mamíferos marinos se exponen a una diversidad significativa de agentes infecciosos, que incluyen una variedad de bacterias, virus, hongos y protozoos, con frecuencia en cantidades considerables. Estos agentes infecciosos no se distribuyen de manera aleatoria, lo que significa que la incidencia real de infección puede variar dependiendo de distintos factores relacionados al ambiente y sobre todo a factores relacionados al individuo (Wursig et al., 2017).

1.3.1. Virales

Dentro de las enfermedades virales, uno de las más importantes, relacionados a eventos inusuales de mortalidad en cetáceos, son las infecciones por *Morbilivirus* (Bossart, 2011); El morbillivirus de cetáceos (CeMV) es un nuevo miembro descrito en la familia *Paramyxoviridae*, estando muy relacionado con el virus del distemper canino (CDV) y el virus del distemper focino (PDV) (Van Bressem et al., 2014).

La mayoría de los *Morbilivirus* son linfotrópicos y epiteliotrópicos (Van Bressem et al., 2014). La replicación viral en órganos linfoides puede provocar inmunosupresión y predisponer al animal a infecciones oportunistas (Gulland et al., 2018). Los signos clínicos tanto en cetáceos como en pinnípedos pueden ser muy variables, presentan cuadros respiratorios como tos, disnea, secreciones oculares y nasales, lesiones en piel, signos neurológicos y en cuadros agudos se asocia a una neumonía intersticial multifocal a difusa, que finalmente afecta su flotabilidad y capacidad de buceo (Duignan et al., 2014; Van Bressem et al., 2014).

En Chile actualmente se menciona un estado de alerta debido a reportes de influenza aviar altamente patógenos (IAAP) H5N1 en mamíferos marinos, coincidiendo con la presentación de H5N1 en aves silvestres (Godoy et al., 2023). Los virus de la influenza aviar (AIV) son miembros de la familia *Orthomyxoviridae* y pertenecen al género

Influenza A, son virus que estando en sus huéspedes naturales y con su alta diversidad genética, Presenta un potencial inherente para desencadenar una pandemia.(Kalthoff et al., 2010). Se ha observado un aumento significativo de varamientos y mortalidad entre los lobos marinos (*Otaria flavescens*). Los signos clínicos corresponden a signos neurológicos y respiratorios, consistentes con la mortalidad observada en los individuos infectados (Godoy et al., 2023; Ulloa et al., 2023).

Dentro de la histopatología revisada, se describe en pulmones, áreas de neumonía focal y dilatación bronquial con exudado inflamatorio, y en cuanto hallazgos histopatológicos característicos, se menciona en cerebro, la presentación de meningoencefalitis y encefalitis no supurativa, con presencia de manguitos perivasculares linfocíticos y plasmocíticos, abundante gliosis, necrosis neuronal y hemorragias asociadas (Ulloa et al., 2023).

1.3.2. Bacterianas

En general las infecciones bacterianas se presentan con mayor frecuencia como una infección secundaria; se describe septicemias en casos de bronconeumonía o enteritis en lesiones por parasitosis (Seguel et al., 2011); Los principales agentes bacterianos asociados a enfermedades respiratorias y gastrointestinales son *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *S. aureus*, *Salmonella spp.*, *Aeromonas spp.*, y *Streptococcus β-hemolítico spp.* (Gulland et al., 2018; Wursig et al., 2017).

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica que se distribuye a nivel mundial, infectando una alta gama de huéspedes mamíferos; esta bacteria prolifera en ambientes acuáticos (Gulland et al., 2018). Siendo los lobos marinos los más susceptibles a la enfermedad, dado a la cercanía que tienen ellos con otras especies, como los perros domésticos (Bossart, 2011), representando un potencial riesgo a la salud pública, la infección de este agente zoonótico (Sepúlveda et al., 2015). Los principales signos en pinnípedos, se caracteriza por depresión, deshidratación, polidipsia, anorexia, fiebre, vómitos, ictericia, aborto y paresia en miembros posteriores (Waltzek et al., 2012).

En cuanto hallazgos histopatológicos característicos de infecciones bacterianas, en la leptospirosis se describe una nefritis intersticial linfoplasmocítica con necrosis tubular, caracterizando la presencia de la bacteria en el epitelio tubular renal, con la acumulación moderada de células plasmáticas y linfocitos en tejidos intersticiales (Gulland et al., 1996).

1.3.3. Parasitarias

El parasitismo es una de las principales causas de patología asociada con los varamientos en pinnípedos y cetáceos salvajes, afectando al cerebro y los pulmones, así como al tracto gastrointestinal, el hígado y el páncreas. La infestación de parásitos es casi universal en mamíferos marinos, sin embargo, las lesiones son muy dependientes de los factores ambientales y del huésped (Wursig et al., 2017).

Los parásitos se pueden dividir dependiendo de la patología que causa en el individuo; con relación a las bronconeumonías verminosas, los principales agentes son del género *Metastrongylus* (parásitos pulmonares), dentro de los más reportados se describen a *Otostrongylus circumlitus*, seguida de *Stenurus minor* y *Pseudalius inflexus* (Fischbach y Seguel, 2023). De los parásitos gastrointestinales, se menciona tanto en cetáceos y pinnípedos, la infección por Ascaroideos (*Anisakis sp.* y *Pseudoterranova sp.*) y Cestodos (*Diphyllobothrium sp.*) (Hermosilla et al., 2016; Torres et al., 1992). La infección por Anquilostomas (*Uncinaria sp.*) se describe con mayor frecuencia en las especies de Otáridos (Seguel et al., 2017).

Dentro de la histopatología observadas por parasitosis gastrointestinal, se describe una enteritis con bacteriemia y con la presencia de parásitos adheridos a la mucosa intestinal (*Uncinaria sp.*), acompañado por infiltrado inflamatorio y necrosis de la submucosa (huella de alimentación) y hemorragia en tónicas musculares adyacentes. (Seguel et al., 2011, 2017)

En tanto a la neumonía verminosa, se observa al *Metastrongylus* dentro de la luz alveolar junto con una reacción inflamatoria intersticial, puede ir acompañado por un exudado inflamatorio mixto (Gonzales-Viera et al., 2011).

1.4. Patologías no infecciosas

Las crecientes influencias antropogénicas (por el hombre) y la utilización del ecosistema marino aumentan constantemente la presión sobre los mamíferos marinos (Brennecke et al., 2023), las influencias nocivas tanto, traumas físicos, intoxicaciones, enfermedades metabólicas; deficiencia nutricional, trastornos genéticos y malformaciones e inclusive el estrés, generan daño en el individuo (Wursig et al., 2017).

1.4.1. Tóxicos

Dentro de las intoxicaciones en la fauna marina, se caracterizan la presencia de contaminantes orgánicos persistentes (COP) como son los órgano halogenados (OH), que se caracterizan por su bioacumulación en los ecosistemas marinos (son altamente lipofílico), lo que resulta en una alta concentración en tejidos; Los altos niveles de contaminantes documentados incluyen químicos como los pesticidas organoclorados (OC), incluidos diclorodifeniletanos (DDT) y bifenilos policlorados (PCB) (Bossart, 2011; Gulland et al., 2018). Los efectos toxicopatológicos de muchos de estos contaminantes se relacionan a patologías al sistemas endocrino, neurológico, reproductivo, de desarrollo, inmunológico y celular (Bossart, 2011).

1.4.2. Traumas

Los traumas se pueden clasificar según su origen, intraespecíficos (entre la misma especie), interespecíficas (entre especies) y antropogénicas (entre las actividades humanas y las poblaciones de mamíferos marinos); dentro de las intraespecíficas, se describe comúnmente por disputas territoriales y apareamiento; en las interespecíficas, se observa más en conductas de depredación. Las lesiones de tipo punzantes profundas, se atribuyen a ataques y mordeduras de grandes depredadores como los tiburones (Gulland et al., 2018).

En relación con los traumas antropogénicos, se menciona comúnmente al atrapamiento en redes de pesca o captura incidental, como una de las amenazas más importantes a los mamíferos marinos. Se describe la presencia de lesiones e impresiones de redes, además de edema alveolar y congestión de órganos (IJsseldijk et al., 2021).

Las colisiones con barcos también pueden ser causantes de traumatismos o muerte en mamíferos marinos, pero el distinguir el trauma *premortem* y *postmortem* puede resultar difícil. La evaluación histológica del músculo esquelético puede ayudar a determinar si el trauma ocurrió antes o después de la muerte, las lesiones van desde laceraciones, hemorragia hasta amputación (Sierra et al., 2014).

Otra manifestación de las actividades antropogénicas descritas en los mamíferos marinos son los proyectiles balísticos, traumatismos que pueden ser superficiales o penetrantes, variando según el tipo de arma de fuego, el tipo de munición (proyectil o perdigón), el ángulo y la distancia del disparo. Exámenes clínicos e histopatológicos describen asociación entre traumatismos balísticos con procesos patológicos, como infecciones o toxicosis (Moore et al., 2013).

1.4.3. Estrés

Se reportan casos tanto en especies de cetáceos como en pinnípedos, la relación de un estrés agudo, con degeneración muscular que afecta tanto el músculo esquelético como al cardíaco y nefrosis tubular, debido a la liberación masiva de catecolaminas endógenas (adrenalina, noradrenalina) (Herráez et al., 2013; Seguel et al., 2014).

En muestras histológicas de corazón se pueden observar áreas multifocales de degeneración miocárdica (múltiples bandas de contracción hipereosinofílicas en cardiomiocitos y con núcleos picnóticos) (Seguel et al., 2014). En músculo esquelético, se observa atrofia muscular, las fibras hipercontraídas rodeadas por edema (Sierra et al., 2017). Las lesiones histopatológicas renales, muestran a los túbulos afectados con necrosis del epitelio inflamado con núcleos picnóticos en las células tubulares (Herráez et al., 2013).

1.4.4. Neoplasias

Se habla de la asociación entre ciertos contaminantes antropogénicos e infecciones virales con la formación de neoplasias (Newman y Smith, 2006); tanto los virus del papiloma como los virus del herpes se han relacionado con neoplasias genitales y orales en múltiples especies de cetáceos (Rehtanz et al., 2012); se describe al herpes

virus otarino-1 (OtHV-1) como agente etiológico de la formación de carcinoma urogenital en lobos marinos (Buckles et al., 2006).

1.5. Histopatología como técnica de diagnóstico

El examen histopatológico permite trazar un cronograma de las lesiones, identificando patrones del daño, evaluando la salud general del individuo y estableciendo posibles causas del fallecimiento. Es muy importante que las muestras preparadas para el examen sean muestras representativas de la lesión y de buena calidad, teniendo en cuenta una correcta conservación del tejido en formalina neutra tamponada al 10% en una proporción de 1:10 para garantizar una fijación adecuada (Brooks, 2018).

1.6. Importancia del estudio histopatológico

Los patrones histopatológicos observados en mamíferos no tienen mucha diferencia entre sí, sin embargo, es esencial contar con un conocimiento detallado de la micro anatomía específica para poder identificar las diferencias sutiles (Gulland et al., 2018); cada hallazgo que se observa puede encaminar aún más a un diagnóstico certero e indicar el estado de la enfermedad.

El estudio histopatológico proporciona una vía distinta para comprender mejor las patologías que puedan estar afectando a los mamíferos marinos, asimismo, el estudio de estos animales, pueden ser un buen indicador del estado de salud del ecosistema marino (Bossart, 2011).

Por esta razón, en esta investigación se realizará una caracterización de los hallazgos histopatológicos encontrados en distintos órganos de mamíferos marinos recibidos por la unidad de morfología y diagnóstico veterinario, con el objetivo de recopilar los patrones encontrados, analizando la asociación que existen entre especies y sus patologías, permitiendo aportar a la investigación en el área de histopatología de estas especies.

2. HIPOTESIS

- Los hallazgos histopatológicos encontrados en órganos de mamíferos marinos (Pinnípedos y Cetáceos) recibidos por la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia son de carácter inflamatorio sugerentes a patologías infecciosas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- I. Caracterizar los hallazgos histopatológicos en órganos de mamíferos marinos (Pinnípedos y Cetáceos) recibidos por la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, en el periodo de 2014 al 2023.

3.2 Objetivos específicos

- I. Identificar los hallazgos histopatológicos encontrados en órganos de mamíferos marinos recibidos por la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario.
- II. Relacionar los hallazgos histopatológicos encontrados, con sus patologías descritas en la literatura.
- III. Comparar los hallazgos histopatológicos encontrados en los órganos de ejemplares de pinnípedos con los hallazgos histopatológicos encontrados en los órganos de ejemplares de cetáceos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio científico es de tipo experimental descriptivo. La primera etapa consistió en la descripción histopatológica de órganos de mamíferos marinos recibidos en la Unidad de Morfología y Diagnóstico veterinario, de la Escuela de Medicina Veterinaria, de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia con el patrocinio del profesor guía a cargo del estudio, el Dr. Frank Vera. Los resultados de esta etapa se usaron para diseñar y generar una segunda fase cuantitativa que permitió evaluar los hallazgos histopatológicos entre las muestras de las poblaciones de estudio y sus patologías descritas (Muñoz, 2013).

4.1. Material

Para la realización del presente trabajo se utilizó muestras de tejido obtenidos en necropsias realizadas en temporadas anteriores (2014 – 2023).

4.2. Animales

Se analizaron 40 individuos de 8 especies marinas diferentes, Los individuos que se utilizaron para este estudio correspondieron a ejemplares de lobo marino común (*Otaria flavescens*), lobo fino austral (*Arctocephalus australis*), marsopa espinosa (*Phocoena spinipinnis*), delfín austral (*Lagenorhynchus australis*), delfín chileno (*Cephalorhynchus eutropia*), ballena fin (*Balaenoptera physalus*), cachalote (*Physeter macrocephalus*) y ballena piloto (*Globicephala melas*) (Tabla 1).

Tabla 1. Especies presentes en este estudio.

ESPECIES	N° CASOS	N° LAMINAS	N° ORGANOS
<i>Arctocephalus australis</i>	10	57	54
<i>Balaenoptera physalus</i>	1	5	1
<i>Cephalorhynchus eutropia</i>	1	12	7
<i>Globicephala melas</i>	1	10	6
<i>Lagenorhynchus australis</i>	1	9	6
<i>Otaria flavescens</i>	22	123	91
<i>Phocoena spinipinnis</i>	3	14	12
<i>Physeter macrocephalus</i>	1	10	5
TOTAL	40	240	182

Fuente: Elaboración propia, 2024

Los ejemplares provenientes de la región de Los Lagos fueron proporcionados por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA, 2023), para la realización de examen *post mortem*.

4.3. Informes de necropsia

Se utilizaron informes de necropsia realizadas a los mamíferos marinos recibidos por la Unidad, durante los años 2014 a 2023; Se descartaron la temporada del 2023, para toma de muestras de pinnípedos, dado a la contingencia sanitaria de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad, ocurrida durante ese periodo.

4.4. Muestras de tejidos

Las muestras de tejidos para el análisis histopatológico se procesaron en el Laboratorio de Histopatología animal dependiente de la Unidad de Morfología y Diagnóstico veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede De la Patagonia.

Se analizaron muestras de bazo, corazón, encéfalo, estomago, hígado, intestino, musculo, nódulos, pulmón y riñón, órganos de rutina, indicados por el manual de necropsia en animales domésticos (Paredes y Cubillos, 1995).

4.5. Equipo, material e instrumental

Para la realización de las necropsias se utilizó instrumental básico de disección constituido por: cinta de medir, cuchillos, chaira, serrucho, guantes de látex, formalina tamponada 10%, alcohol etílico 70% y frascos herméticos para muestra de 150 y 500 ml; Para la visualización de los cortes histológicos se utilizó microscopio óptico (Leica DM-500) (Muñoz, 2013).

4.6. Necropsias

Las necropsias se realizaron siguiendo el método para carnívoros indicado por Paredes y Cubillos (1995) en el “Manual de necropsia en animales domésticos”, en combinación con el “Manual de necropsia de odontocetos” impulsado por la Asociación de Médicos Veterinarios de Fauna Silvestre de Chile (AMEVEFAS, 2017). De cada necropsia se elaboraron un informe registrando los datos recolectados (sexo, peso y edad

aproximada), medidas morfométricas (longitud total, diámetro axilar, longitud de aletas pectorales y caudales) y sus principales hallazgos macroscópicos y la posible causa de muerte.

4.7. Obtención y conservación de muestras

Se obtuvieron muestras de 1 cm³ de los principales órganos y tejidos, incluyendo porciones macroscópicamente patológicas y de tejido normal adyacente, con el fin de ser analizados mediante histopatología. Estas fueron conservadas en frascos con formalina tamponada al 10%, rotulados con la especie, los órganos y la fecha en que se recolectaron (De Groote Páez, 2007).

4.8. Proceso histopatológico

La histopatología es el examen microscópico del tejido para estudiar las manifestaciones de la enfermedad (Pugliares et al., 2007).

Las muestras de tejidos fueron procesadas y analizadas en el laboratorio de histopatología animal, según lo indicado en el “Manual de procedimientos de laboratorio de histopatología veterinaria” por TM Jazmín Mueña Meneses y Dr. Frank Vera Otárola (Anexo 1), en combinación con el proceso histopatológico de rutina indicado por Bancroft et al. (2019) en “Theory and Practice of histological techniques”.

Los pasos del proceso histopatológico de rutina son:

4.8.1. Fijación de la muestra

El principal objetivo de la fijación en patología es mantener características morfológicas claras y consistentes del tejido. El fijador elegido actuó minimizando la pérdida o destrucción enzimática y destrucción por microorganismos durante largos periodos de tiempo (Bancroft et al., 2019). La fijación se realizó con formalina al 10 % neutralizada en una proporción de al menos 10:1 del fijador con respecto al tejido, justo al momento de la necropsia.

4.8.2. Inclusión de la muestra

El objetivo de este paso consistió en reemplazar toda el agua del interior del tejido por un medio más consistente. Esto permitió obtener cortes de tejido finos (3 a 5 μm) y seriados para ser analizados bajo el microscopio óptico.

La inclusión consistió en una serie de sub-pasos:

- a) **Deshidratación:** Se realizó con una batería de alcoholes etílicos ascendentes (70°, 95° y 100°), las muestras se sumergieron en cada estación.
- b) **Aclaramiento:** En este proceso se retiró el alcohol por medio del Xilol, un líquido intermediario que es miscible tanto con el alcohol absoluto como con la parafina, las muestras fueron sumergidas en este líquido que además proporciona al tejido un poco de transparencia.
- c) **Impregnación o infiltración:** Con parafina en estado líquido, a altas temperaturas (58 a 65°C), las muestras fueron sumergidas para que la parafina ingrese en su interior.
- d) **Formación de taco o molde:** Posterior a la completa infiltración y con la ayuda de moldes de metal, las muestras se introdujeron en parafina que se solidificaron a temperatura ambiente.

4.8.3. Microtomía

La Microtomía es el medio por el cual el tejido se secciona y se adhirió a la superficie de un portaobjetos de vidrio para el examen microscópico, consistió en obtener cortes finos y seriados, idealmente de no más 5 μm de espesor, obteniendo una cinta de parafina con tejido. El instrumento utilizado es el micrótopo, instrumento mecánico y de precisión que permitió obtener este tipo de cortes (Bancroft et al., 2019).

Posterior al corte, las cintas debieron ser estiradas sobre agua tibia (40° C aprox.) en un recipiente eléctrico llamado baño de flotación, que calentó la parafina junto con el tejido, permitiendo que se extendieran los cortes, para posteriormente fijarlos a la superficie del portaobjetos.

4.8.4. Desparafinación

Procedimiento que implicó la eliminación completa de la parafina presente en el tejido, ya que esta obstaculizaba la penetración de los colorantes en el tejido. Se empleó Xilol para disolver la sustancia consistente, dejando únicamente el tejido unido al portaobjetos. Luego, se concluyó esta fase con una etapa de rehidratación, en la que los portaobjetos se sumergieron en una serie de alcoholes en orden descendente (100°, 95° y 70°), culminando con un enjuague final en agua destilada.

4.8.5. Tinción

En esta fase, el tejido se sometió a un proceso de coloración para resaltar las diferencias entre sus diversos componentes estructurales. La técnica de tinción utilizada fue la tinción hematoxilina y eosina (HE) de rutina. La hematoxilina coloreó los núcleos celulares en tonos azul-negro, lo que permitió la visualización de los detalles intranucleares con claridad, mientras que la eosina es un colorante citoplasmático, tiñendo principalmente componentes básicos del tejido y la mayoría de los componentes del citoplasma, dándole un color rosado.

4.8.6. Deshidratación y Montaje

Con el propósito de conservar las muestras teñidas de forma permanente, se realizaron nuevamente una deshidratación, con una batería de alcoholes ascendente (70°, 95° y 100°). Posteriormente se aclaró en Xilol, esta vez el líquido tuvo la principal función de transparentar un poco el tejido. Lo que facilitó una observación al microscopio óptico de mejor calidad.

Para finalizar el procesamiento histológico fue necesario cubrir la muestra con un cubreobjetos, con la ayuda de una resina sintética, la cual, al secarse permitió que la muestra quedase completamente aislada.

4.9. Análisis descriptivo

Para facilitar el análisis de los resultados, se confeccionaron tablas con los datos de los exámenes microscópicos, separando por especies, utilizando el programa Microsoft Excel® 365. La magnitud de cada una de las lesiones histopatológicas fue evaluada en

forma descriptiva cuantitativa mediante al uso de un Histoscore; escala con valores de 0 a 3 según la severidad o distribución de la lesión (De Groote Páez, 2007).

Adaptando para este estudio las escalas descritas por Barría (2023) y modificadas para el presente estudio. Las variables que se consideraron para el análisis histopatológico son trastornos de tipo: Inflamatorios, Necróticos, Circulatorios, Degenerativos y Del Crecimiento Celular (Anexo 2). Los trastornos degenerativos que se examinaron fueron: Tumefacción turbia, degeneración hidrópica, degeneración hialina, degeneración grasa y degeneración mucosa, descritos en Paredes y Cubillos (2006).

Tabla 2. Graduación de Histoscore para Inflamación.

INFLAMACIÓN		
Ausente	0	Sin presencia de células inflamatorias
Leve	1	Presencia de foco de infiltración de células inflamatorias.
Moderada	2	Presencia de infiltrado de células inflamatorias multifocal.
Severa	3	Infiltración de células inflamatorias difusa que abarca gran parte del tejido afectando la estructura normal.

Fuente: Adaptado de Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visión (*Neovision Vision*) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos, por C. Barria, 2023. Derechos Reservados 2023 para Universidad San Sebastián.

Tabla 3. Graduación de Histoscore para Necrosis.

NECRÓTICOS		
Ausente	0	Sin presencia de núcleos picnóticos.
Leve	1	Picnosis focal.
Moderada	2	Picnosis multifocal.
Severa	3	Picnosis difusa, abarca gran parte del tejido.

Fuente: Adaptado de Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visión (*Neovision Vision*) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos, por C. Barria, 2023. Derechos Reservados 2023 para Universidad San Sebastián.

Tabla 4. Graduación de Histoscore para Trastornos Circulatorios.

CIRCULATORIOS		
Ausente	0	Sin presencia de lesiones circulatorias.
Leve	1	Lesión circulatoria focal.
Moderada	2	Lesiones circulatorias multifocales o de distinto origen.
Severa	3	Lesiones circulatorias de distinto origen y que abarcan gran parte del tejido.

Fuente: Adaptado de Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visón (*Neovison Vison*) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos, por C. Barria, 2023. Derechos Reservados 2023 para Universidad San Sebastián.

Tabla 5. Graduación de Histoscore para Trastornos Degenerativos.

DEGENERATIVOS		
Ausente	0	Sin cambios degenerativos.
Leve	1	Lesión degenerativa focal.
Moderada	2	Degeneración multifocal con grado de infiltración moderada.
Severa	3	Degeneración severa, ocupando gran parte del tejido, de carácter irreversible.

Fuente: Modificado de Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visón (*Neovison Vison*) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos, por C. Barria, 2023. Derechos Reservados 2023 para Universidad San Sebastián.

Tabla 6. Graduación de Histoscore para Trastornos del Crecimiento Celular.

DEL CRECIMIENTO CELULAR		
Ausente	0	Tejido sin anomalía.
Leve	1	Cambios estructurales a nivel celular, de distribución focal en el tejido.
Moderada	2	Zonas multifocales con cambios en aspecto funcional y estructural a nivel celular.
Severa	3	Trastorno en estructura celular generalizado, abarcando gran parte del tejido.

Fuente: Modificado de Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visón (*Neovison Vison*) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos, por C. Barria, 2023. Derechos Reservados 2023 para Universidad San Sebastián.

4.10. Análisis estadístico

En este estudio se utilizó una estadística descriptiva. Utilizando esta fórmula: % de lesiones = (Cantidad de muestras con lesión / total de muestras) x 100.

Se calcularon los porcentajes correspondientes para cada trastorno y órgano estudiado de los que se tuvieron mayor relevancia en este estudio, lo que representó la presencia de hallazgos histopatológicos en cada clasificación, tanto en pinnípedos como en cetáceos. El “porcentaje” indica el valor respectivo a cada hallazgo en relación con el total de órganos correspondiente presentes en cada clasificación. Las tablas proporcionaron información cuantitativa sobre la presencia de cada lesión en los tejidos específicos. Los resultados se analizaron mediante el programa GraphPad Prism 9.

5. RESULTADOS

OBJETIVO 1: IDENTIFICAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN ÓRGANOS DE MAMÍFEROS MARINOS RECIBIDOS POR LA UNIDAD DE MORFOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO VETERINARIO.

Tras el análisis histopatológico de 182 órganos correspondientes a 40 casos de mamíferos marinos (Tabla 1), se identificaron y se clasificaron diversos hallazgos histopatológicos, como trastornos circulatorios, degenerativos, necróticos, inflamatorios y del crecimiento celular.

Con lo que respecta a trastornos circulatorios, los hallazgos encontrados fueron concordantes a congestión, hiperemia, hemorragia y edema, siendo la congestión e hiperemia, los hallazgos con mayor presentación en la gran mayoría de los tejidos estudiados. El edema fue un hallazgo que se presentó en una alta proporción tanto en pulmón y encéfalo de pinnípedos y cetáceos (Anexo 3 y 4).

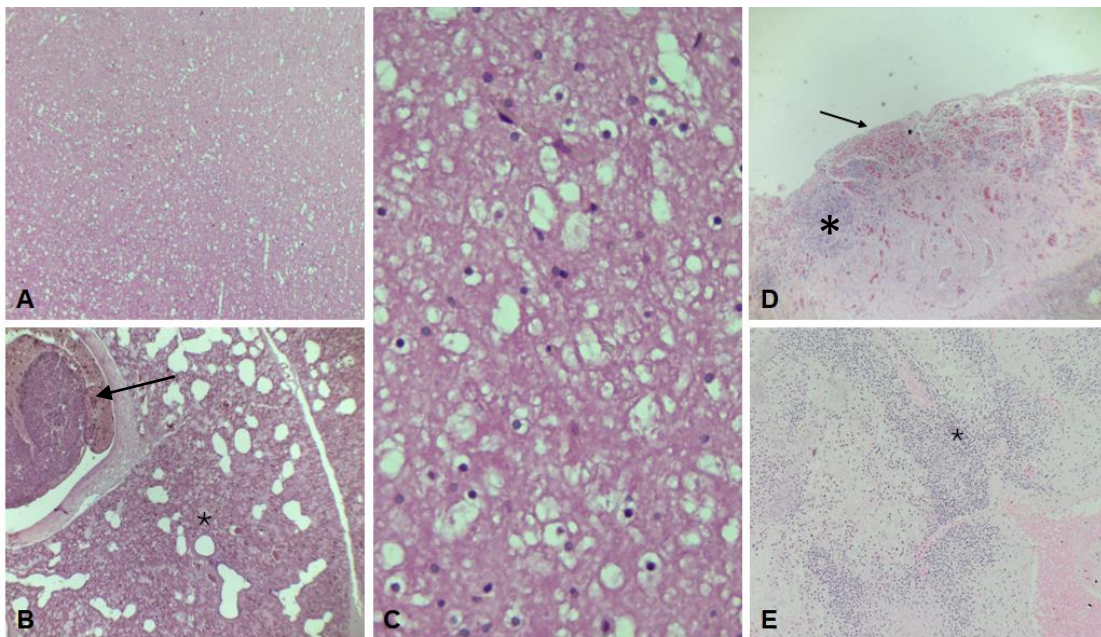


Figura 1. Trastornos circulatorios de encéfalo, pulmón y nódulo linfático de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Muestra de encéfalo, aspecto esponjiforme, observándose numerosos espacios vacuolados claros, dispersos por el tejido, indicando presencia de edema cerebral. H&E. 10X. **(B).**

Parénquima pulmonar, presenta engrosamiento de paredes alveolares, estasis venosa moderada, con abundante material homogéneo eosinofílico al interior de los alveolos, sugerente de edema pulmonar (asterisco), en el lumen arterial, se aprecia estructura compuesta de glóbulos rojos e infiltrado inflamatorio mixto, abundante hemosiderosis (flecha). H&E. 10X. **(C)**. La arquitectura del tejido cerebral parece desorganizada, con los espacios vacuolados separando las estructuras celulares normales, hinchazón de células gliales debido a la presencia de líquido intracelular. H&E. 40X. **(D)**. Congestión e hiperemia pulmonar, con bastantes acúmulos de eritrocitos extravasados, concordante a hemorragias multifocal (flecha), proliferación de tejido intersticial, con zonas multifocales de infiltrado inflamatorio linfocitario (asterisco). H&E. 10X. **(E)**. Corte histológico de nódulo linfático, presencia de congestión, focos necróticos, con abundante infiltrado inflamatorio mixto linfoplasmocítico (asterisco). H&E. 10X.

En el análisis histopatológico de las muestras, en lo que respecta a la inflamación, los hallazgos encontrados fueron infiltrados inflamatorios linfocitarios, plasmocitario, eosinofílico o mixtos, peri-vasculitis, lesiones inflamatorias peri bronquiales y lesiones inflamatorias asociadas a presencia de parásitos (figura 3). Dentro de los tipos de infiltrados vistos en las muestras que presentaron inflamación (56 muestras), el infiltrado inflamatorio con mayor presentación fue de tipo linfocítico (38%) (figura 2), siendo estómago y pulmón los órganos con mayor presentación, tanto en pinnípedos como en cetáceos (tabla 15).

Presentación de tipos de infiltrado inflamatorio

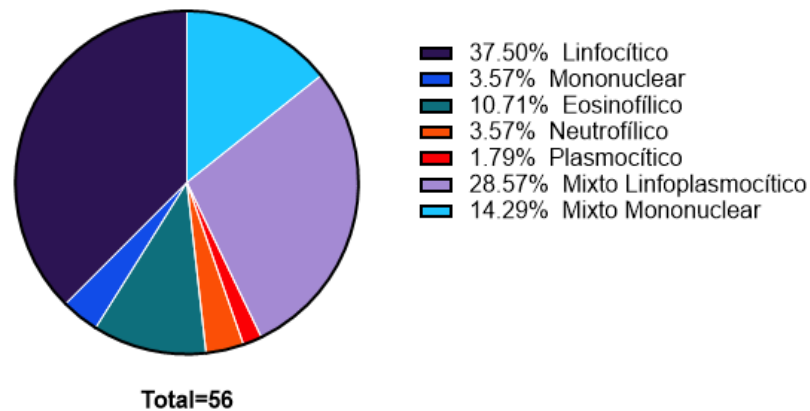


Figura 2. Porcentaje de presentación de tipos de infiltrados inflamatorios observados. Fuente: Elaboración propia, 2024. Del total de 56 muestras que presentaron inflamación, considerando muestras de pinnípedos y cetáceos, el infiltrado linfocitario mostro la mayor con una presentación de 38%, seguida del infiltrado mixto linfoplasmocítico con un 29%.

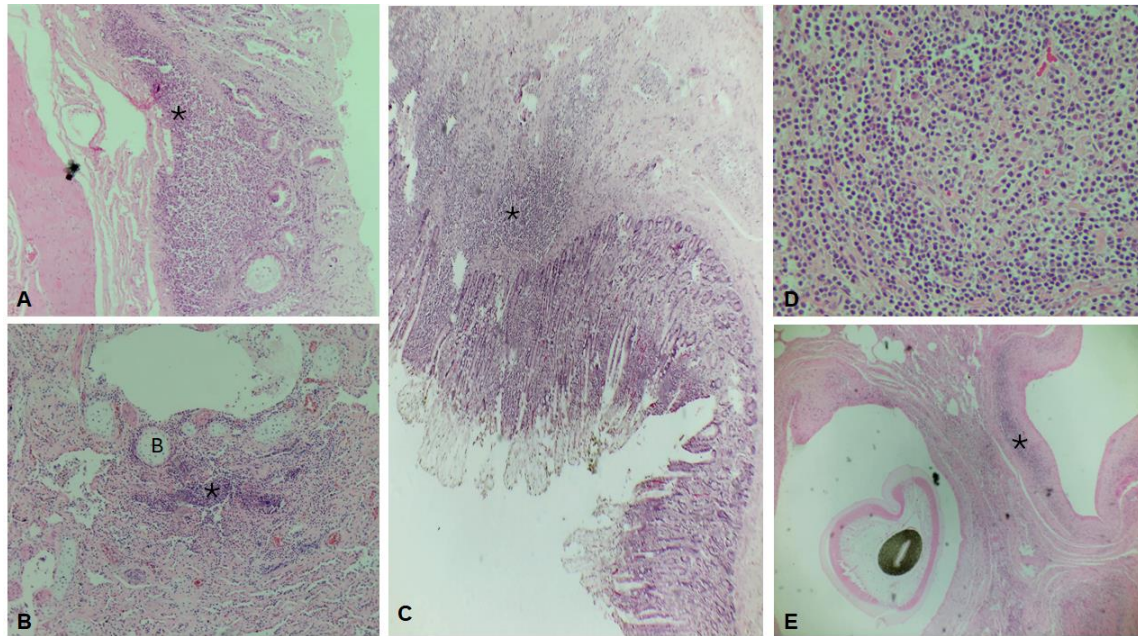


Figura 3. Trastornos de tipo inflamatorio en muestras de pulmón, estómago, intestino y bazo de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Presencia de infiltrado inflamatorio mixto en la base de la mucosa gástrica (asterisco), pérdida leve de vellosidades. H&E. 10X. **(B). Pulmón** de delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). Presencia de infiltrado inflamatorio mixto peribronquial (asterisco) cartílago bronquial (B). H&E. 10X. **(C). Epitelio intestinal**, lámina propia densamente infiltrada con linfocitos y células plasmáticas, fusión de vellosidades y presencia de eritrocitos extravasados, infiltrado mixto en la submucosa (asterisco), concordante con enteritis. H&E. 10X. **(D).** Infiltrado mixto, abundante presencia de linfocitos, células plasmáticas y algunos eosinófilos observados en parénquima pulmonar. H&E. 40X. **(E).** Presencia de estructura parasitaria intrabronquial, sugerente de corresponder a especie *Pseudalius inflexus*, infiltrado inflamatorio linfoplasmocítico focal subepitelial. H&E. 10X.

En relación con la presencia de infiltrado inflamatorio y parasitosis, se pudo observar la presencia de nemátodos probablemente correspondientes al género *Metastrongylus*, ubicados en el lumen alveolar y peribronquial, también presencia de nemátodos obstruyendo el lumen o adheridos a epitelio intestinal en muestras correspondientes a lobo fino austral (*Arctocephalus australis*) (figura 5 y 6), además de la presencia de parásitos protozoarios del género *Sarcocystis* (figura 12).

Porcentaje de especies con presencia de parásitos en pulmón

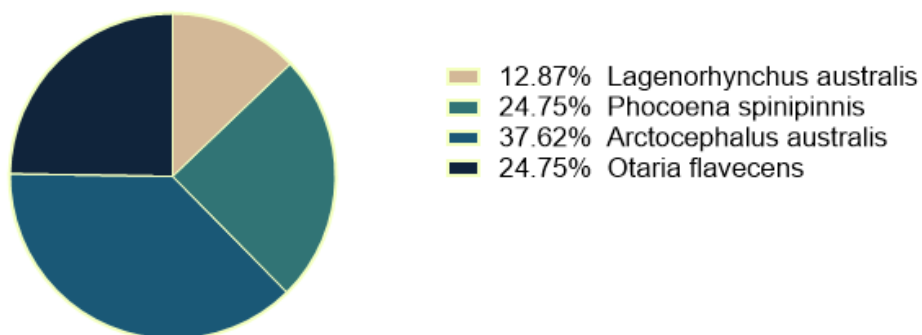


Figura 4. Porcentaje de especies con presencia de neumonía verminosa. Fuente: Elaboración propia, 2024. Dentro de los pulmones analizados (36 muestras) el 22% presentaron presencia de nemátodos, y el mayor porcentaje fueron muestras obtenidas de lobos finos australes (*Arctocephalus australis*) con 38%.

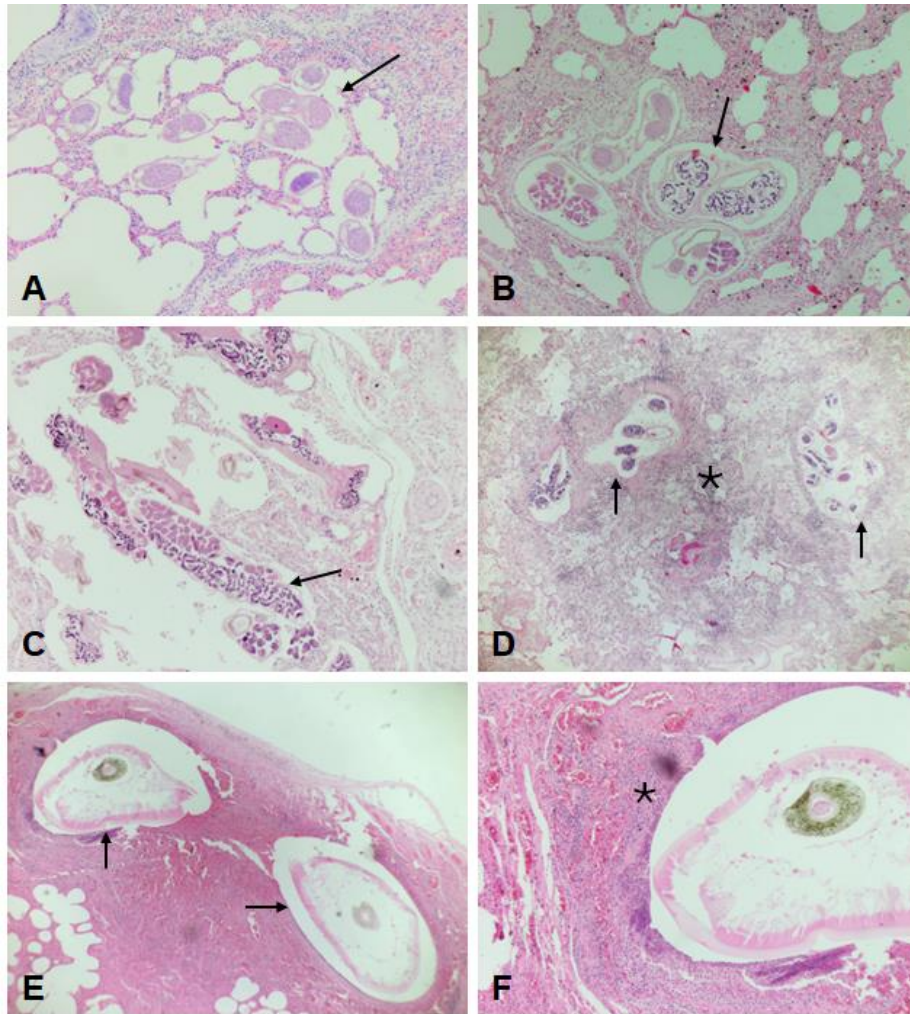


Figura 5. Parasitosis en pulmón de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Parasito sugerente a *Metastrongilos* dentro de la luz alveolar (flecha), presencia de focos de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario, y congestión pulmonar. H&E. 10X. (B). Sección transversal de parásitos dentro del alveolo, en pulmón de lobo fino austral. H&E. 10X. (C). Presencia de nemátodos pulmonares, dentro la luz alveolar, observándose estructuras de color basofílico correspondientes a larvas en desarrollo (flecha). H&E. 10X. (D). bronconeumonía verminosa (flecha) con infiltrado difuso peribronquial (asterisco). H&E. 10X. (E). Presencia de parásitos pulmonares, sugerente a especie *Pseudalius inflexus* (flechas) en pulmón de marsopa espinosa, con abundantes eritrocitos extravasados y enfisema. H&E. 10X. (F). Mayor aumento de nemátodo que se muestra en (E), Infiltrado inflamatorio linfocitario subepitelial, con presencia de hemorragia subyacente. H&E. 40X.

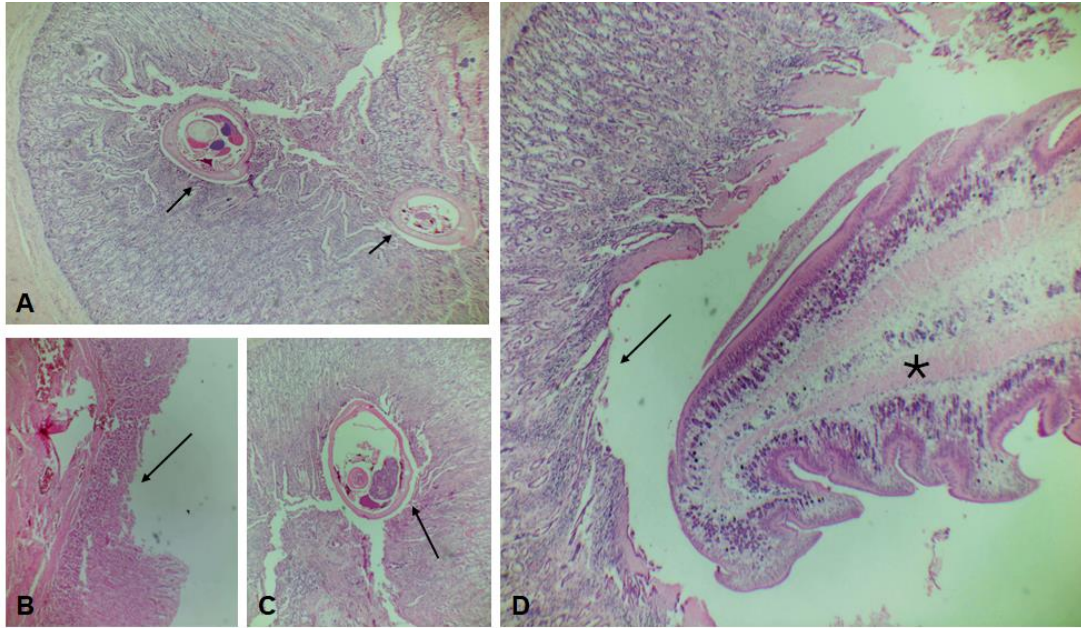


Figura 6. Hallazgos de parásitos gastrointestinales en pinnípedo. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Enteritis relacionada a presencia de parásitos adheridos a la mucosa intestinal de lobo fino austral, con focos inflamatorios alrededor del nemátodo (flechas). H&E. 10X. **(B).** Úlcera gástrica de gran tamaño (flecha) asociada a presencia de parasitosis. H&E. 10X. **(C).** Nemátodo adherido a epitelio intestinal (flecha), con hiperplasia de la mucosa, con infiltrado eosinofílico. H&E. 10X. **(D).** Corte sagital de nematodo en el lumen intestinal (asterisco), con pérdida de vellosidades en mucosa (flecha) H&E. 10X.

Con el análisis histopatológico de las muestras, en lo que respecta a necrosis, los hallazgos corresponden a zonas de picnosis o presencia de núcleos picnóticos, los cuales tienen una apariencia densa, oscura y de tamaño pequeño. Dentro de los órganos observados, el hígado presentó mayor proporción tanto en pinnípedos y cetáceos (tabla 11), siendo la necrosis de caseificación el hallazgo más representativo.

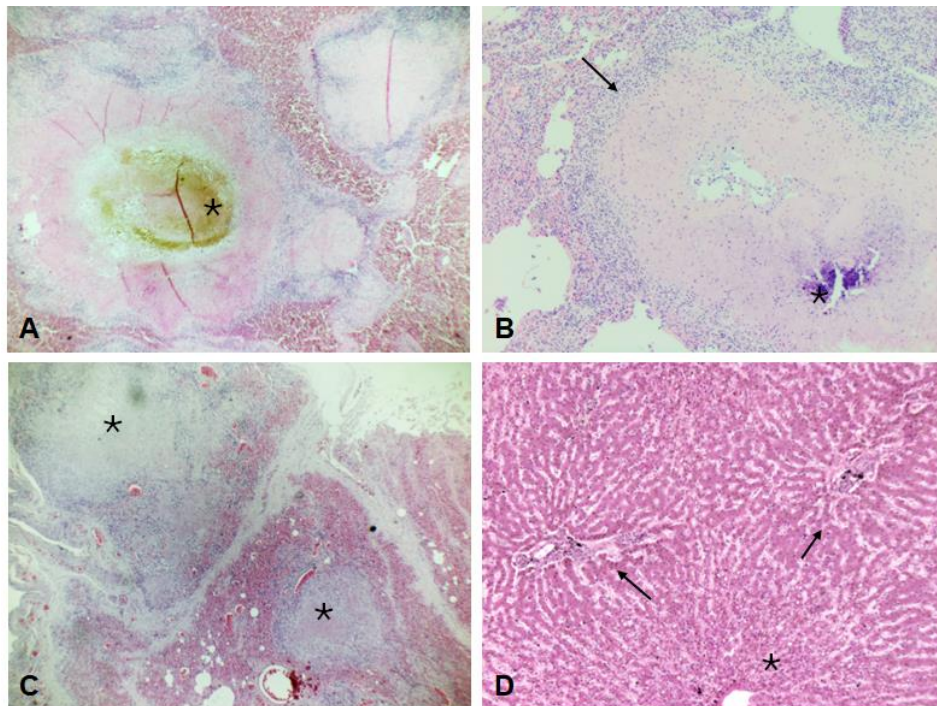


Figura 7. Trastornos necróticos en pulmones e hígados estudiados de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Corte histológico de **hígado** de lobo fino austral, presencia de focos necróticos, de tipo caseoso, rodeados con infiltrado inflamatorio mixto linfoplasmocítico, hallazgo correspondiente a granuloma (asterisco), con abundante hemorragia adyacente a la lesión. H&E. 10X. **(B).** Se observa zona de necrosis en el pulmón, caracterizada por la desintegración del tejido. Alrededor de esta área necrótica, hay infiltrados inflamatorios mixtos compuestos principalmente por linfocitos, macrófagos y algunas células plasmáticas. En el centro de la necrosis, se identifica calcificación, manifestándose como depósitos basofílicos que indican la mineralización del tejido necrótico. H&E. 10X. **(C).** Muestra histológica de **pulmón**, se identifican dos focos necróticos (asteriscos), con infiltrado inflamatorio mixto a su alrededor, predominantemente compuesto por linfocitos y macrófagos. Además, se nota

una extensa hemorragia en el tejido circundante, evidenciada por la presencia abundante de eritrocitos extravasados en la región perilesional. H&E. 10X. **(D). Hígado de ballena piloto (*Globicephala melas*).** Se identifican áreas de necrosis centrolobulillar, donde los hepatocitos muestran características de necrosis coagulativa, incluyendo pérdida de núcleos y citoplasma eosinofílico homogéneo, junto con la proliferación de conductos biliares (flechas). Además, hay evidencia de degeneración grasa difusa en los hepatocitos, con vacuolas lipídicas claras presentes en el citoplasma, predominando en las zonas periportales pero extendiéndose hacia las áreas centrolobulillares, lo que corresponde a hallazgos sugerentes a procesos tóxicos. H&E. 10X.

En lo que respecta a trastornos degenerativos encontrados en pinnípedos y cetáceos, los hallazgos encontrados fueron concordantes con tumefacción turbia y una marcada degeneración grasa en hígado, degeneración mucosa en muestras de estómago e intestino, fragmentación de fibras en músculo cardiaco y estriado, zonas con presencia de calcificación en hígado y riñón, presencia de hemosiderosis en bazo, observación de pigmento biliar en muestras de hígado y acúmulos hialinos en riñón de muestras provenientes de ballena piloto (*Globicephala melas*) (Anexo 3 y 4).

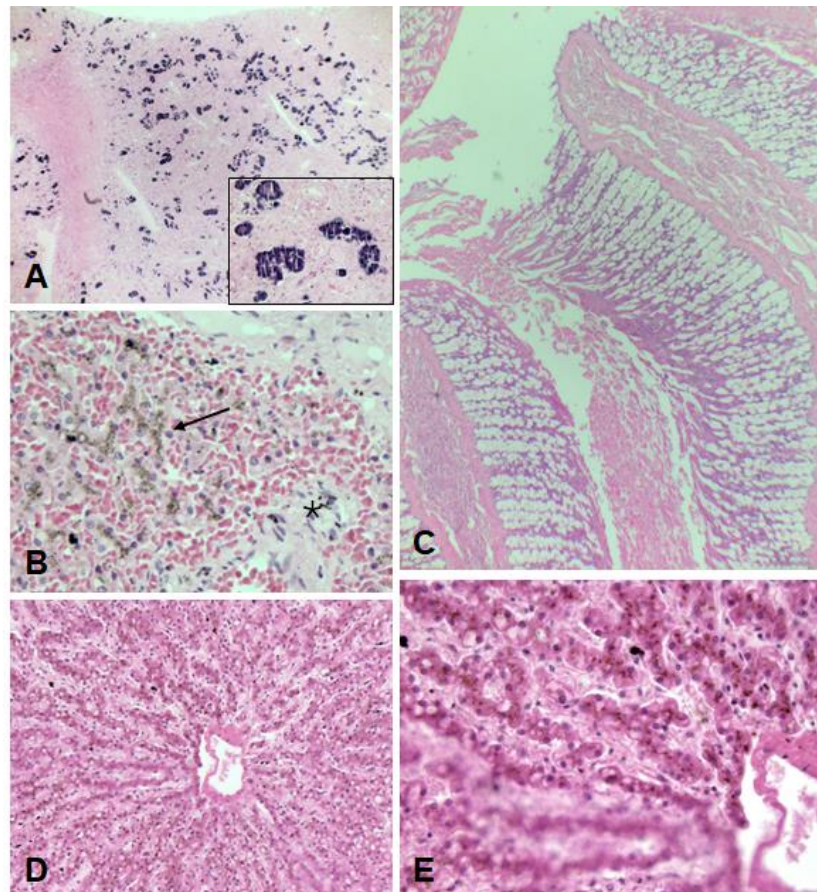


Figura 8. Trastornos degenerativos en riñón, hígado e intestino de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Numerosos focos de calcificación (nephrocalcinosis) distribuidos a lo largo del parénquima, depósitos basofílicos localizados en los túbulos y el intersticio renal. A pesar de la abundante autólisis observada en la muestra, que causa la degradación celular y la pérdida de detalles histológicos, las áreas de calcificación son claramente identificables. H&E. 10X. En el recuadro, se muestra la misma imagen a un mayor aumento, visualización detallada de

las áreas de calcificación, donde los depósitos calcificados se observan como masas amorfas de material basofílico. H&E. 40X. **(B). Hígado**, se observa una marcada congestión, con una abundante presencia de eritrocitos extravasados en el espacio extracelular, indicando hemorragia intraparenquimatosa, además de la presencia de pigmento biliar en canalículos (flecha). H&E. 40X. **(C)**. Marcada degeneración mucosa con cambios evidentes en las células caliciformes y una leve hiperplasia del epitelio intestinal. H&E. 10X. **(D)**. Necrosis centrolobulillar, con abundante degeneración grasa. H&E. 10X. **(E)**. Misma muestra (D) a mayor aumento, observando vacuolas claras en el citoplasma, que comprimen el núcleo hacia la periferia de la célula, con la presencia de pigmento biliar. H&E. 40X.

En relación con los trastornos del crecimiento celular, tanto en pinnípedos y cetáceos, los hallazgos histopatológicos más representativos fueron de muestras de bazo con la presencia de hiperplasia de pulpa blanca y pulpa roja (tabla 14).

También se observaron hiperplasia de mucosa intestinal asociado a degeneración mucosa y presencia de infiltrado inflamatorio, además de presencia de proliferación de centros germinales en muestras de nódulos linfáticos.

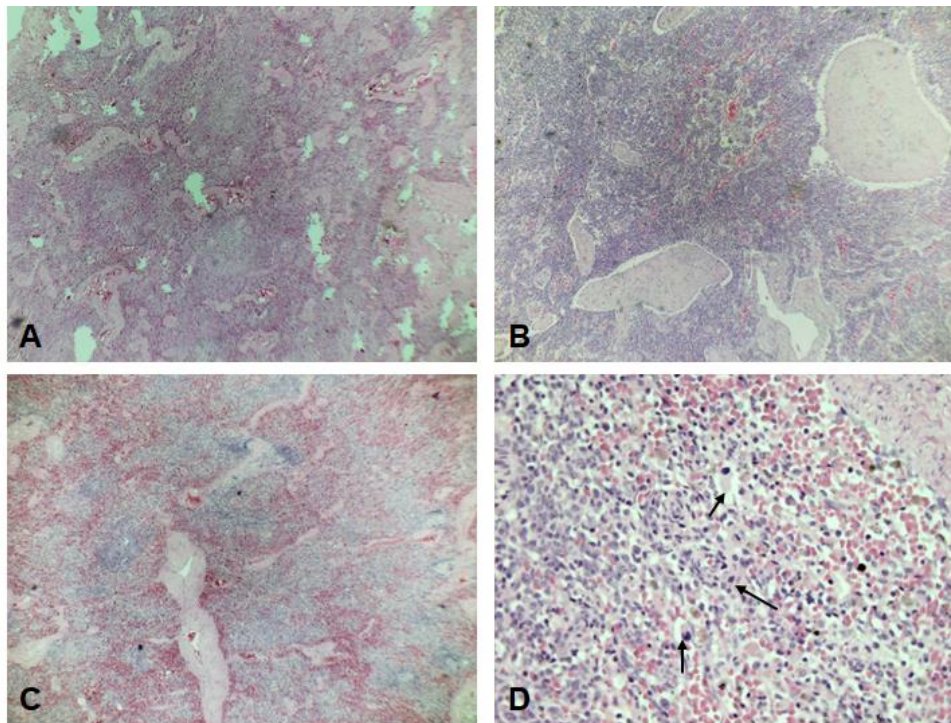
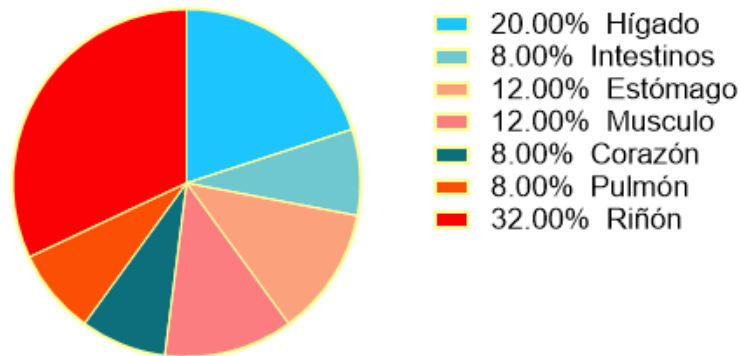


Figura 9. Muestras de bazo de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Bazo de aspecto más basofílico por hiperplasia de pulpa blanca, además de presencia de congestión moderada. H&E. 10X. **(B).** Marcada por la hiperplasia de la pulpa blanca, congestión esplénica y la presencia de un infiltrado celular mixto linfoplasmocitario. H&E. 10X. **(C).** Aumento y densidad de la pulpa roja, indicando hiperplasia de pulpa roja en bazo de lobo marino común (*Otaria flavescens*). H&E. 10X. **(D).** Aumento de imagen (C), indicando la presencia de megacariocitos (flechas) H&E. 40X.

Otros hallazgos vistos fueron la presencia de autólisis en distintos órganos estudiados, siendo las muestras de riñón las con mayor presentación (32%) (figura 10). También se observó presencia de enfisema en muestras de pulmón (64%) (figura 11) y se evidenció émbolos bacterianos en intestino de delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) (figura 12).

Porcentaje de órganos sobre el total de autólisis



Total=25

Figura 10. Presentación de autólisis en órganos estudiados de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. Del total de órganos, 25 muestras presentaron autólisis en un rango de leve a severo, siendo las muestras de riñón, las que presentaron un mayor porcentaje (32%), seguido por el hígado (20%).

Porcentaje de especies con presencia de enfisema

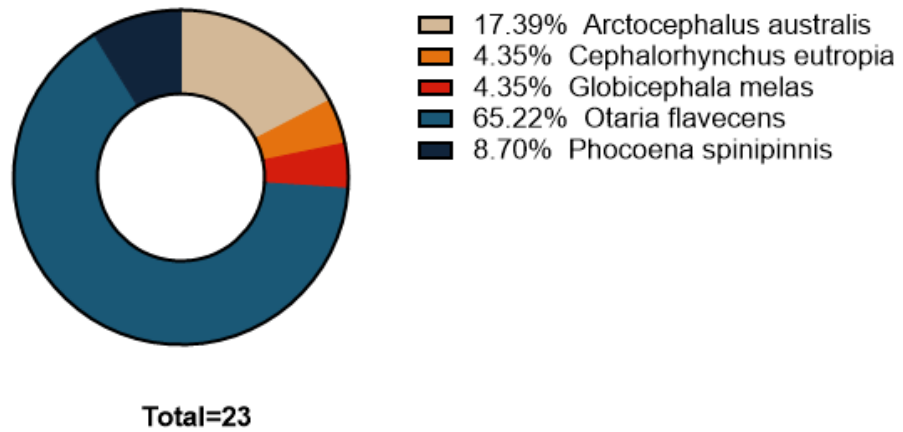


Figura 11. Presentación de enfisema por especies en muestras de pulmón. Del total de muestras obtenidas de pulmón (36 muestras), 23 muestras (64%) evidenciaron enfisema, siendo las muestras de lobo marino común (*Otaria flavescens*) las que presentaron mayor proporción (65%).

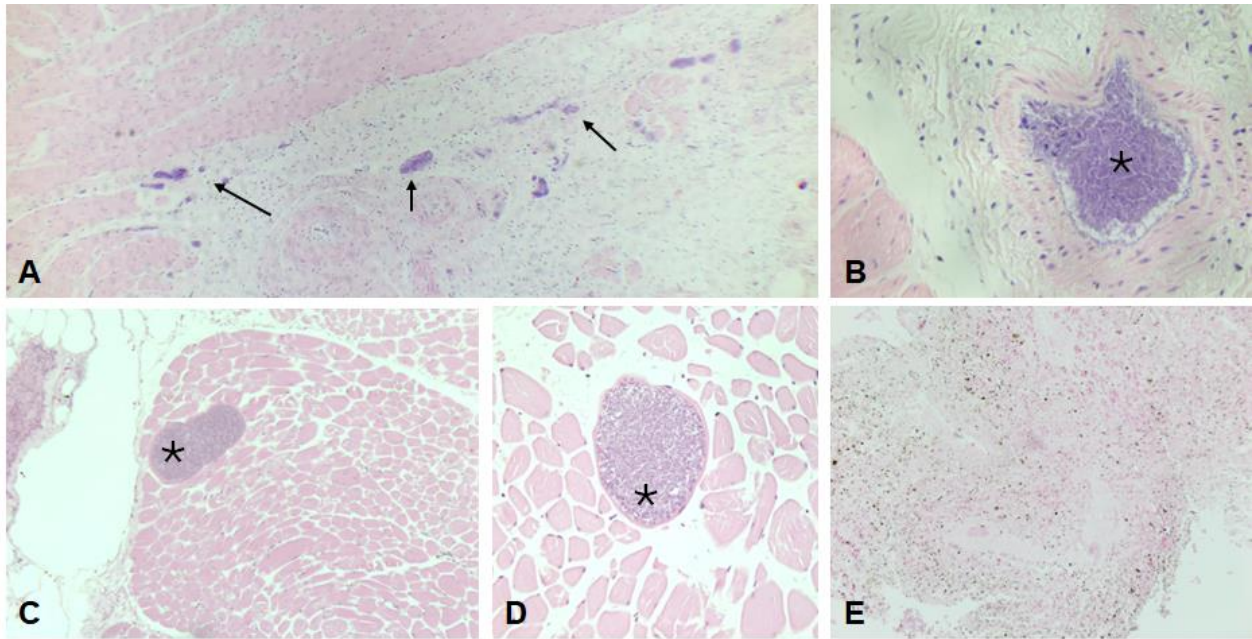


Figura 12. Otros hallazgos histopatológicos vistos en órganos de pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A). Presencia de estructuras basofílicas intravasculares en submucosa de intestino de delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) (flechas), hallazgo sugerente de émbolos bacterianos. H&E. 10X. **(B).** Estructura intravascular, compuesta por bacterias agrupadas (asterisco). H&E. 40X. **(C).** Vista microscópica de quiste tisular de *Sarcocystis* sp. en tejido muscular (asterisco) de delfín chileno (*Cephalorhynchus eutropia*). H&E. 10X. **(D).** Misma muestra de (C), pero en distinta ubicación, presencia de sarcoquiste en corte de tejido muscular (asterisco). H&E. 40X. **(E).** Muestra de hígado de cachalote (*Physeter macrocephalus*), evidenciando cambios morfológicos típicos de **autólisis**, incluyendo la pérdida de la estructura normal del tejido. Se observan pequeños gránulos de color marrón-amarillento, concordante con hemosiderosis en el tejido. H&E. 10X.

OBJETIVO 2: RELACIONAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS, CON PATOLOGÍAS DESCRITAS EN LA LITERATURA.

Tabla 7. Tabla comparativa de hallazgos histopatológicos encontrados y bibliografía que describe hallazgos asociados a patologías de mamíferos marinos.

Órganos	Hallazgos histopatológicos	Autor y año	Bibliografía de hallazgos histopatológicos descritos
Pulmón	Presencia de líquido eosinofílico en espacios alveolares, compatibles con edema, acompañado con severa extravasación de eritrocitos en distintas zonas de la muestra, sugerentes a hemorragia, presencia de infiltrado inflamatorio de tipo linfocitario que abarcaba gran parte del tejido.	(Gulland et al., 2018)	La captura incidental puede incluir: lesiones sugestivas de hipoxia (edema pulmonar, líquido en las vías respiratorias), lesiones físicas y, ocasionalmente, enfisema pulmonar. Cabe destacar que, aunque el edema pulmonar y el líquido en las vías respiratorias pueden ser causados por daño hipóxico a las membranas alveolares, también pueden ocurrir <i>post mortem</i> o como consecuencia de otras enfermedades respiratorias
Pulmón	Presencia de infiltrado inflamatorio mixto linfoplasmocítico difuso, acompañado con focos de edema, congestión pulmonar y hemorragia que abarca gran parte del tejido, presencia de zonas con necrosis y calcificación, concordantes con granulomas	(Gulland et al., 2018)	Las lesiones patológicas descritas en neumonía verminosa de animales cazados o varados incluyen inflamación leve alrededor de nódulos granulomatosos firmes, hemorragia localizada y formación de abscesos con infecciones bacterianas secundarias. En algunos animales se han descrito casos de bronquitis, bronquiolitis, obstrucción bronquiolar, edema pulmonar, bronconeumonía y hemorragia intraalveolar, que a veces conducen a la muerte.
Pulmón	Presencia de parasito peri bronquial, hemorragia y congestión severa, acompañado infiltrado linfocitario multifocal.		
Bazo	Alta presencia de hiperplasia de pulpa blanca	(Duignan et al., 2014)	La hiperplasia de la pulpa blanca está asociada a respuestas inmunitarias, como

			en casos de infecciones virales o bacterianas, donde el bazo aumenta su actividad para combatir la infección. La hiperplasia de la pulpa blanca puede ser un indicador de activación del sistema inmunitario en respuesta a un agente infeccioso.
Intestino	Presencia de degeneración mucosa severa, acompañada de hiperplasia de la mucosa intestinal, además de focos de infiltrado linfocitario en la submucosa.	(Seguel, Montalva, et al., 2018; Sepúlveda et al., 2015)	En el contexto de la infección por anquilostomas en crías de lobos marinos, se observan varios cambios en la mucosa intestinal. Las crías que lograron eliminar la infección mostraron un aumento en la cantidad de células inmunitarias como linfocitos T y células plasmáticas en la mucosa y submucosa intestinal,
Estómago	Presencia de infiltrado inflamatorio eosinofílico focal en la submucosa, con hiperemia y hemorragia en vellosidades y pérdidas de estas, sugiere la presencia de úlceras gástricas.	(Gulland et al., 2018)	Úlceras gástricas, son comunes en pinnípedos, pueden ser causadas por varios factores, incluyendo el estrés y la alta carga de nemátodos gástricos.
Riñón	Presencia de calcificación en riñón	(Zachary, 2017)	La presencia de calcificación en riñón apunta a un daño celular extenso y crónico. La calcificación indica áreas de necrosis o lesión previa, donde el tejido muerto se calcifica
Músculo	Presencia de estructuras quísticas basofílicas entre las fibras musculares, sugiere la presencia de Sarcocystis	(Gulland et al., 2018; Ladds, 2009)	Las especies de Sarcocystis a menudo se detectan incidentalmente en el músculo esquelético o el miocardio durante exámenes microscópicos. Este parásito puede infectar a una amplia variedad de huéspedes intermediarios, incluidos los cetáceos. No se ha observado ninguna respuesta inflamatoria notable.

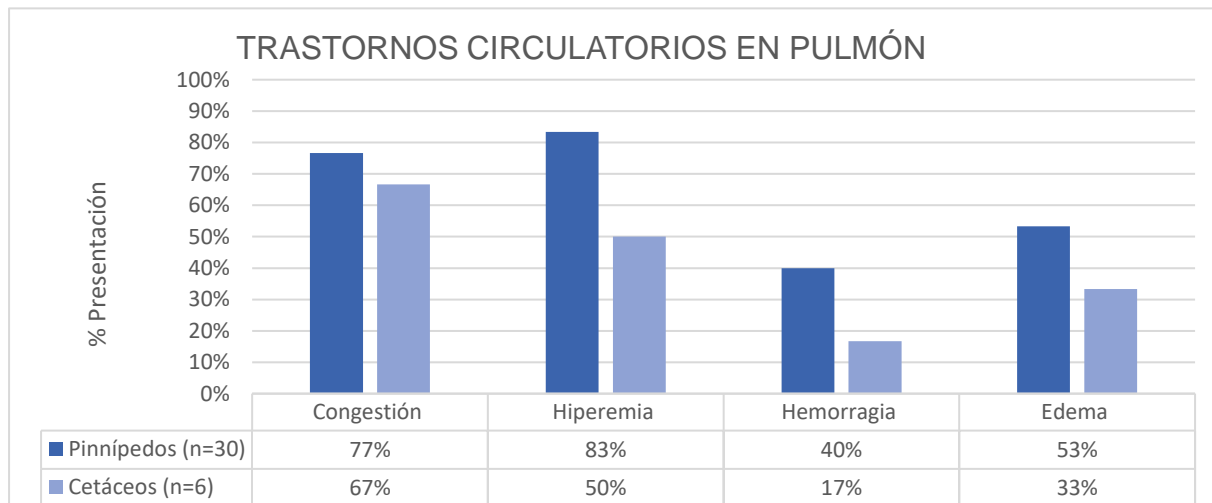
Hígado	Abundante congestión y hemorragias en las muestras, además de degeneración grasa.	(Gulland et al., 2018)	Se ha detectado acumulación, degeneración y necrosis de lípidos en hepatocitos centrolobulillares en ciertas especies de mamíferos marinos debido a la acción de contaminantes ambientales o infecciones por patógenos que alteran el metabolismo de los lípidos, resultando en lipidosis hepática.
Hígado	Abundante degeneración grasa, acompañado de una proliferación y desorganización de conductos biliares, también presencia de congestión centrolobulillar multifocal, necrosis periportal, hallazgos concordantes con toxicosis.		
Hígado	Hemorragia severa, abundantes focos necróticos de tipo caseosa, acompañado con infiltrado inflamatorio severo de tipo lindoplasmocítico, hallazgos histopatológicos concordantes a granuloma hepático	(Ladds, 2009; Wursig et al., 2017)	La presencia de granulomas hepáticos se relaciona con procesos crónicos o enfermedades granulomatosas, como las infecciones por <i>Mycobacterium sp.</i> Estos granulomas son acumulaciones celulares que se forman en respuesta del sistema inmunológico a infecciones persistentes, cuerpos extraños o condiciones inflamatorias crónicas. Además, algunas enfermedades autoinmunes también pueden inducir la formación de granulomas en el hígado.
Encéfalo	Abundante presencia de edema en muestras, además de presencia de infiltrado inflamatorio focal, hemorragias multifocales	(Zachary, 2017)	El edema cerebral puede ser de tipo citotóxico, causado por el aumento del líquido intracelular, o de tipo vasogénico, causado por el aumento del líquido extracelular. Ambos tipos de edema son resultado de diversos tipos de lesiones cerebrales, como un proceso generado por hipoxia, trauma o infección.

Fuente: Elaboración propia, 2024

OBJETIVO 3: COMPARAR LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN LOS ÓRGANOS DE EJEMPLARES DE PINNÍPEDOS CON LOS HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN LOS ÓRGANOS DE EJEMPLARES DE CETÁCEOS.

De acuerdo con los parámetros establecidos para evaluar las lesiones, se creó una tabla para recopilar la información de cada muestra (Anexo 3 y 4). Sin considerar la graduación de las lesiones.

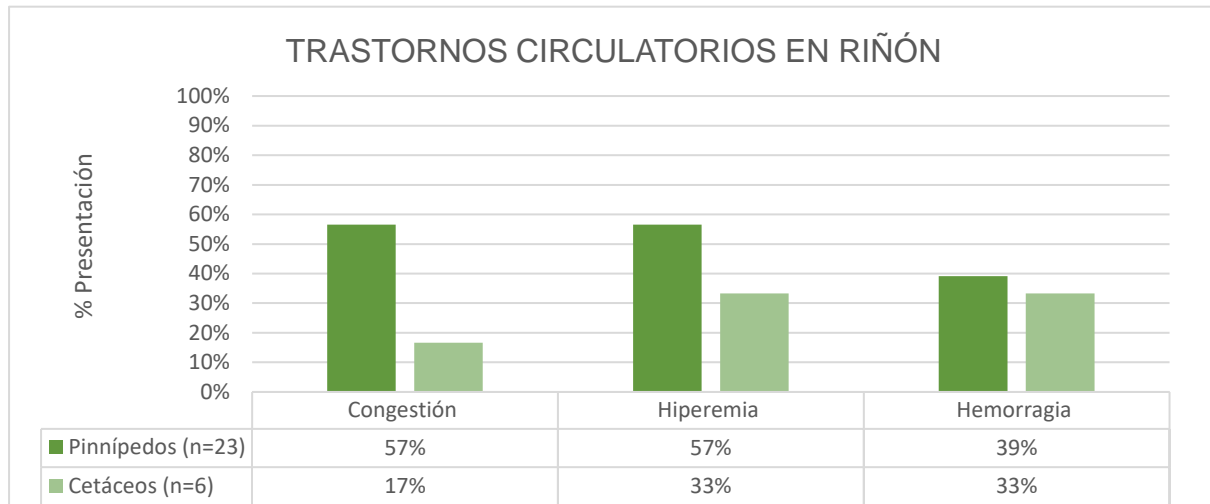
Tabla 8. Hallazgos histopatológicos de trastornos circulatorios en pulmón de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

El análisis nos indica que la congestión y la hiperemia son los hallazgos con mayor presentación, tanto en pinnípedos como en cetáceos. La hiperemia alcanza un 83% en pinnípedos, mientras que la congestión es del 67% en cetáceos, siendo los valores más altos registrados para estos trastornos circulatorios en ambos grupos. Los pinnípedos muestran una mayor incidencia de hemorragia (40% frente a 17% en cetáceos) y edema (53% frente a 33% en cetáceos).

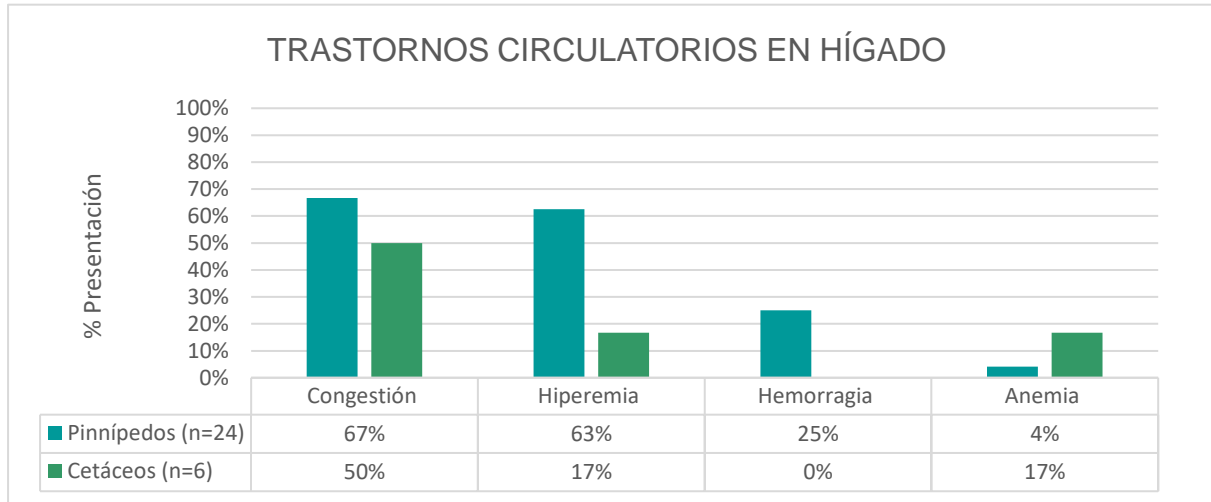
Tabla 9. Hallazgos histopatológicos de trastornos circulatorios en riñón de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

Según el análisis la congestión y la hiperemia son los hallazgos circulatorios más comunes en el riñón en ambas clasificaciones, con un 57% en pinnípedos y un 17% en cetáceos para congestión, un 57% en pinnípedos y un 33% en cetáceos para hiperemia. La hemorragia es el tercer tipo de trastorno circulatorio más común, con un 39% en pinnípedos y un 33% en cetáceos.

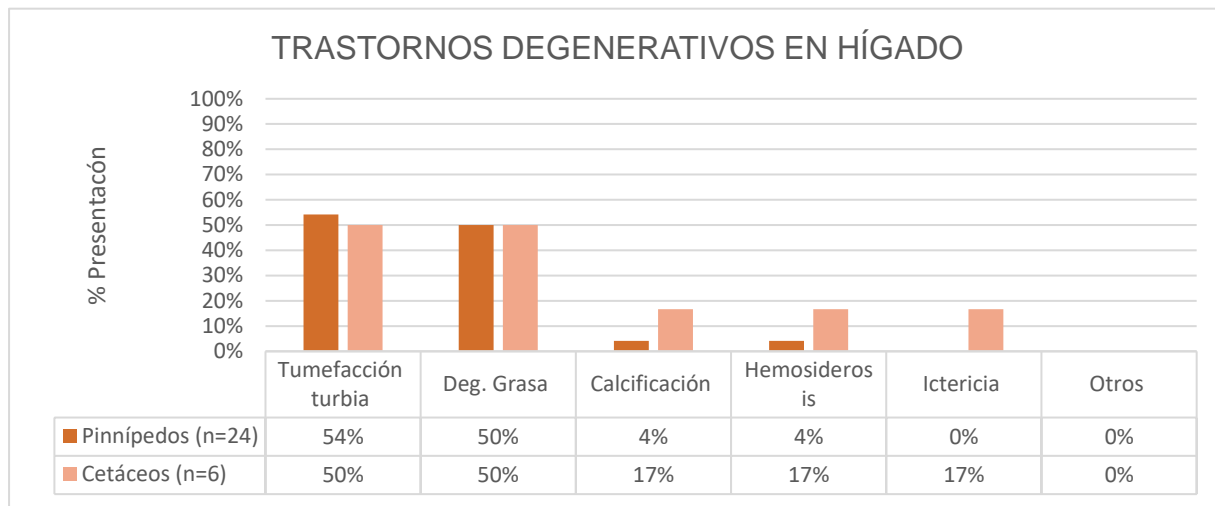
Tabla 10. Hallazgos histopatológicos de trastornos circulatorios en hígado de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

La congestión en pinnípedos afecta a un 67%, siendo el trastorno circulatorio más común en este grupo, en los cetáceos afecta el 50%. En hiperemia se presenta un 63% en pinnípedos, ubicándose en el segundo trastorno más prevalente, en cetáceos, solo afecta a un 17%. Con respecto a la hemorragia no se observó ninguna muestra de cetáceos con lesiones (0%), en cambio en pinnípedos afecta a un 25% de las muestras. Por último, la anemia se presentó en un 4% en muestras de pinnípedos y en un 17% en muestras de cetáceos.

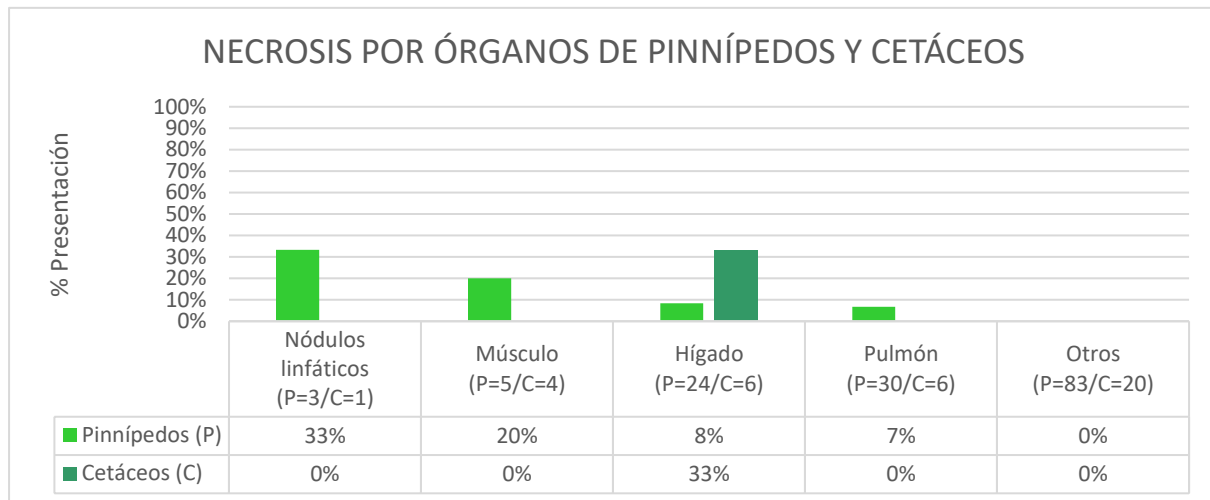
Tabla 11. Hallazgos histopatológicos de trastornos degenerativos en hígado de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

Los datos del gráfico muestran que la tumefacción turbia y la degeneración grasa son los tipos de trastornos degenerativos más comunes en el hígado de pinnípedos y cetáceos, con un 54% en pinnípedos y un 50% en cetáceos para tumefacción turbia, la degeneración grasa se presenta en un 50% para ambas clasificaciones. La calcificación y la hemosiderosis se presenta en menor cantidad, se observa un 4% en pinnípedos y un 17% en cetáceos, en ambos hallazgos. La acumulación de pigmento biliar sólo se presentó en un 17% en muestras de cetáceos. Finalmente, el 100% de las muestras de hígado tanto en pinnípedos como en cetáceos, no presentaron hallazgos como degeneración hidrópica.

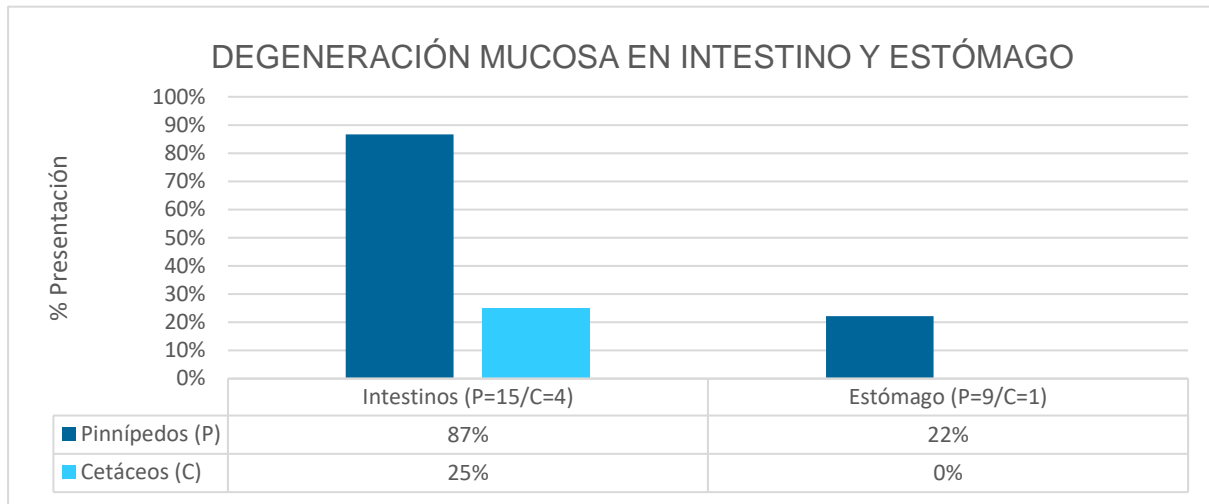
Tabla 12. Presentación de necrosis por órganos de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

Según el análisis, nos indica que cercano al 100% de las muestras de cetáceos no presentaron necrosis, con excepción al hígado que se presentó un 33%. En las muestras de pinnípedos, se observaron que los órganos más afectados por la necrosis en los pinnípedos son los nódulos linfáticos 33%, el músculo 20%, el hígado 8% y los pulmones 7%. Las otras muestras analizadas como bazo, corazón, encéfalo, estómago, intestinos y riñón no presentaron necrosis (0%).

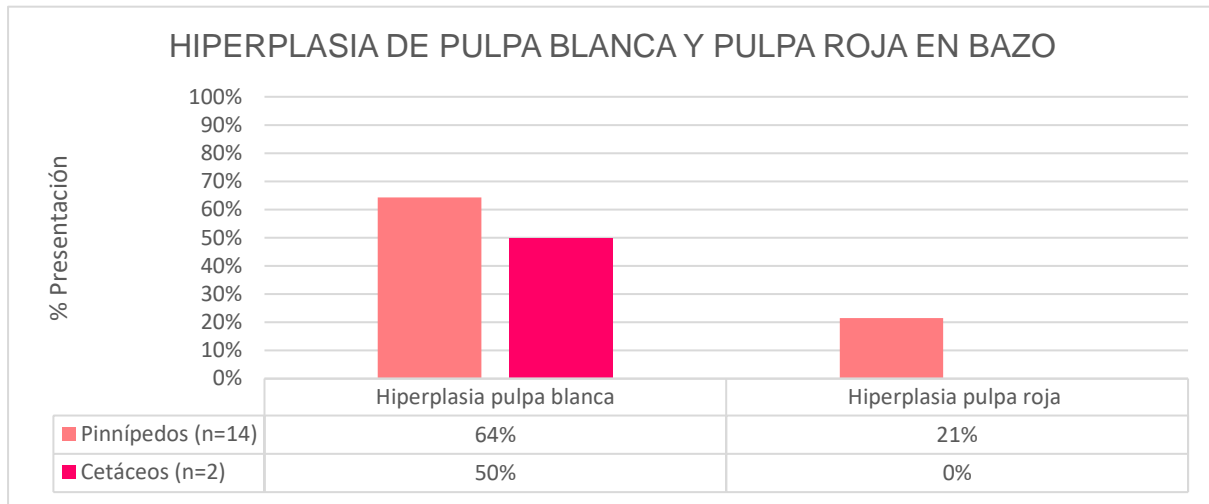
Tabla 13. Presentación de degeneración mucosa en intestino y estómago de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

La presencia de degeneración mucosa tiende a ser mayor tanto en intestinos como en estómagos de pinnípedos que cetáceos, siendo 87% en muestras de intestinos y un 22% en estómago de pinnípedos. El 100% de estómagos de cetáceos no presentaron estos hallazgos histopatológicos.

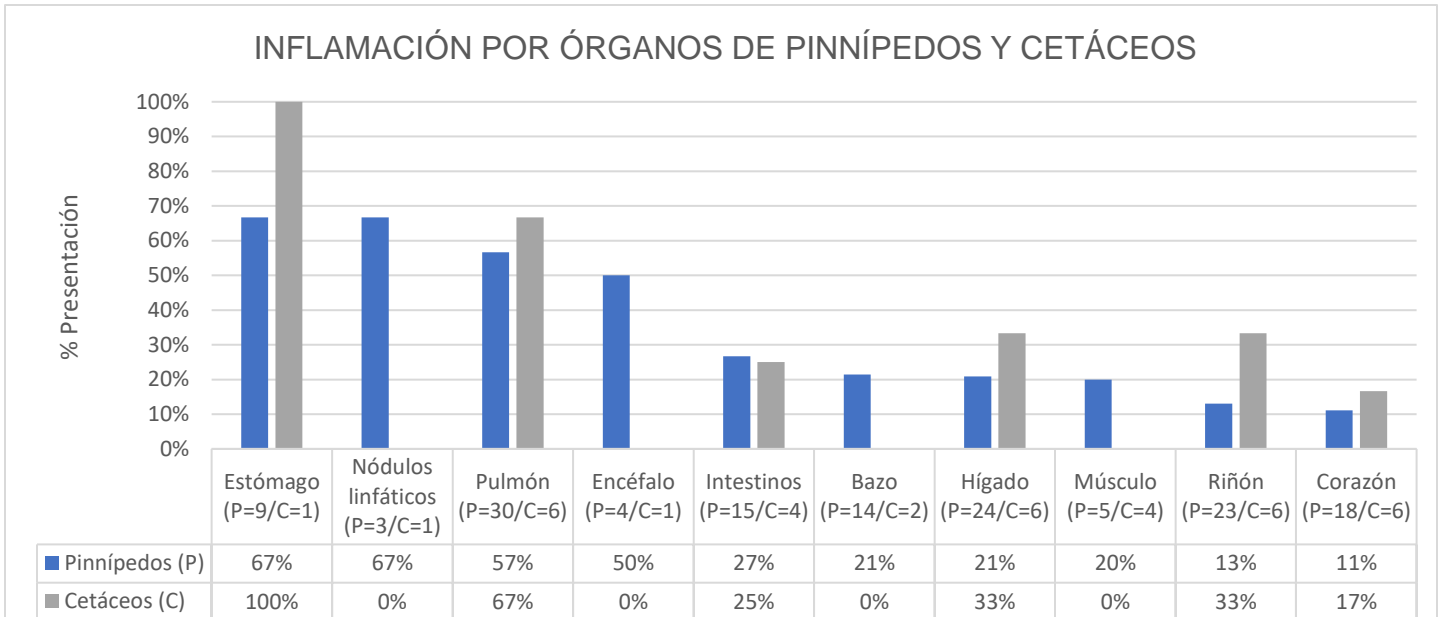
Tabla 14. Presentación de hiperplasia de pulpa blanca y pulpa roja en bazo de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

Los datos muestran que la hiperplasia de pulpa blanca está presente en mayor proporción que la hiperplasia de pulpa roja en bazo en ambas clasificaciones, siendo en las muestras de pinnípedos la mayor proporción de hiperplasia de pulpa blanca, presentando un 64% a diferencia del 50% en cetáceos.

Tabla 15. Presentación de inflamación por órganos de Pinnípedos y Cetáceos.



Fuente: Elaboración propia, 2024

La presentación de inflamación se presentó en todas las muestras de pinnípedos, siendo estómago 67%, nódulos 67% y pulmón 57%, los órganos con mayor presentación de inflamación en este grupo. Con relación a las muestras de Cetáceos los tejidos con mayor presentación fueron estómago con un 100% y pulmón con un 67%.

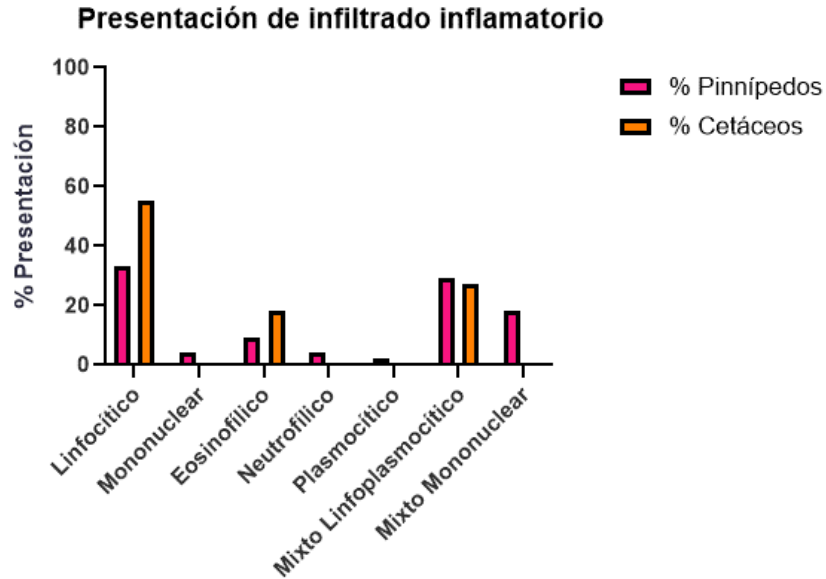


Figura 13. Porcentaje de presentación de infiltrado inflamatorio en pinnípedos y cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. p value <0,0001. Del total de casos que presentaron inflamación en órganos en ambas clasificaciones (n=41 pinnípedos y n=11 cetáceos), presentaron una alta presentación de infiltrado linfocitario, con un 55% en cetáceos y un 33% de pinnípedos, seguido una alta presentación de infiltrado linfocitario en pinnípedos, correspondiente a 29%, mientras que en cetáceos fue de un 27%.

Considerando las alteraciones histopatológicas en Pinnípedos y Cetáceos, se analizaron los hallazgos prevalentes (> 50%) en los órganos estudiados en ambas categorías, mediante el método Histoscore. El porcentaje fue calculado con relación al número de casos que mostraron estos hallazgos, junto con su respectiva graduación (Anexo 3 y 4).

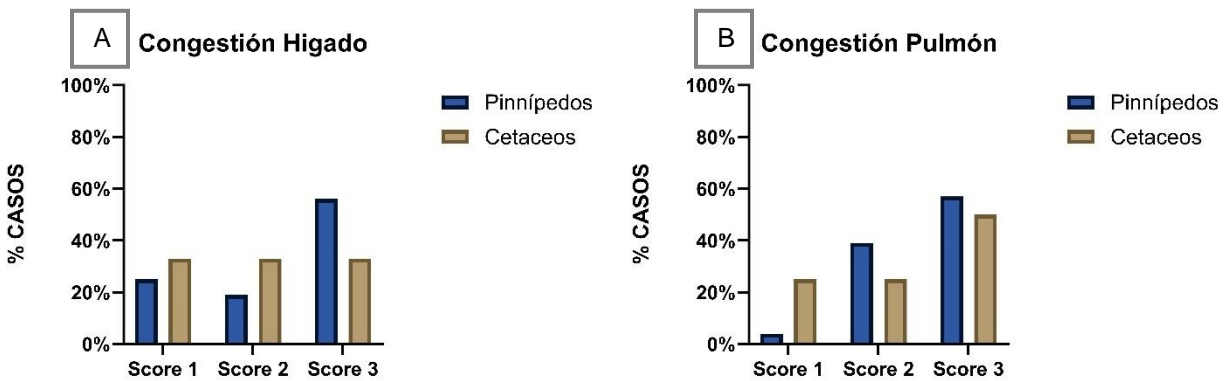


Figura 14. Histoscore de congestión en hígado y pulmón en Pinnípedos y Cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. Los datos de los gráficos (A) y (B) (*p value* 0,0045 y *p value* <0,0001 respectivamente) muestran, que la congestión tanto en hígado y pulmón de cetáceos y pinnípedos, presentaron un alto porcentaje de score 3.

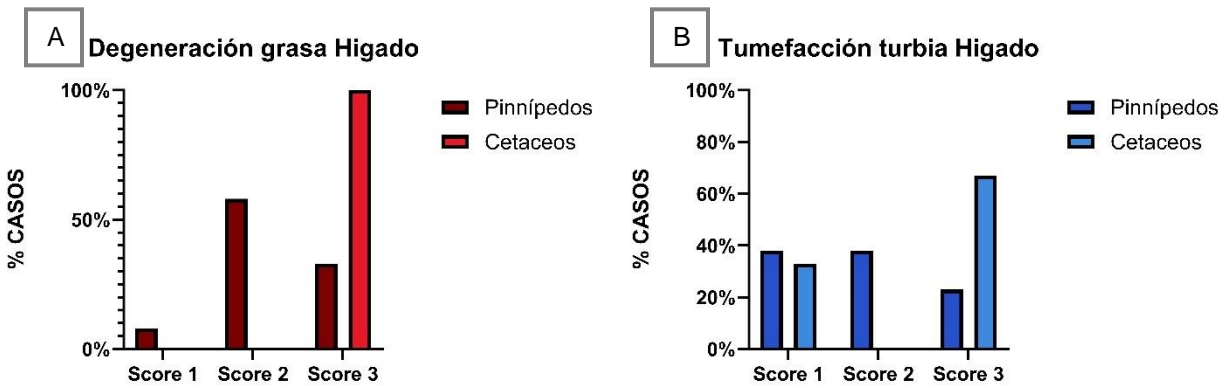


Figura 15. Histoscore de tumefacción turbia y degeneración grasa en hígado de Pinnípedos y Cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A) p value <0,0001, el análisis de Histoscore demuestra que el 100% de degeneración grasa en cetáceos presentó un score 3, a diferencia de los datos de pinnípedos en que el score 2 se presentó en un (58%). (B) p value <0,0001, los datos presentaron una alta presentación de score 3 en tumefacción turbia presentes en hígado de cetáceos (67%), con relación a las muestras de pinnípedos, las cuales se manifestaron de manera más uniforme entre su graduación, score 1 con un 38%, score 2 de 38% y 23% de score 3.

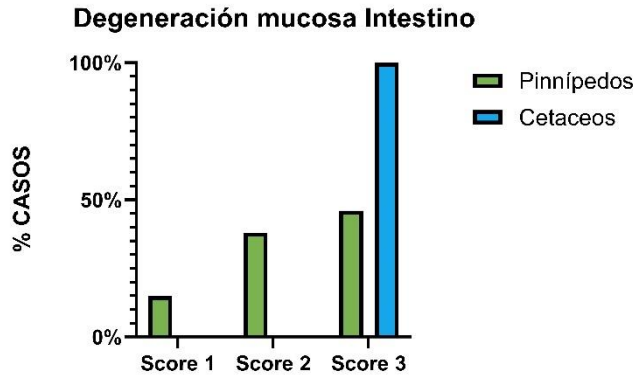


Figura 16. Histoscore de degeneración mucosa en intestino de Pinnípedos y Cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. p value <0,0001. Los datos muestran que el mayor porcentaje para ambas clasificaciones fue de score 3, siendo un 100% para muestras de cetáceos y un 46% en pinnípedos.

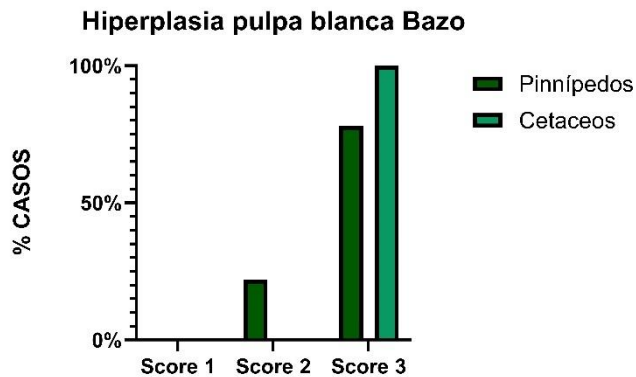


Figura 17. Histoscore de hiperplasia de pulpa blanca en bazo de Pinnípedos y Cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. p value <0,0001. Dentro del total de casos que presentaron hiperplasia de pulpa blanca, tanto en pinnípedos y cetáceos, los mayores porcentajes para ambos fueron de score 3, presentando un trastorno generalizado y abarcando gran parte del tejido, observándose en un 78% de las muestras en pinnípedos y en un 100% en cetáceos.

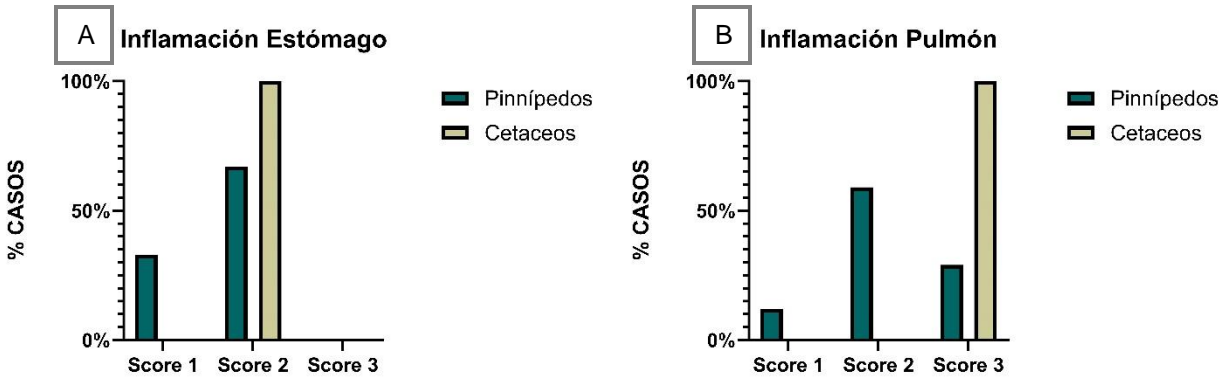


Figura 18. Histoscore de inflamación en estómago y pulmón de Pinnípedos y Cetáceos. Fuente: Elaboración propia, 2024. (A) p value <0,0001, los datos mostraron que, del total de inflamación observadas en estómagos en ambas clasificaciones, la mayoría presento score 2, infiltrado de tipo moderado, multifocal, tanto en pinnípedos (67%) y cetáceos (100%). **(B) p value <0,0001**, el análisis señala que el 100% de inflamación en pulmones de cetáceos fueron de score 3, indicando la presencia de un infiltrado difuso que abarca gran parte del tejido en todas las muestras de pulmón de cetáceos; en cambio las muestras de pinnípedos demostraron que gran parte poseía score 2 (59%), presencia de un infiltrado multifocal.

6. DISCUSIÓN

En este trabajo, se realizó la interpretación histopatológica de hallazgos vistos en órganos de mamíferos marinos, separando en dos grupos el total de muestras (total 182), un grupo de pinnípedos (145 órganos) y cetáceos (37 órganos) para su mejor comprensión, con el objetivo de evaluar y graduar los trastornos de tipo circulatorio, inflamatorio, necrótico, degenerativo y del crecimiento celular, tanto en pinnípedos, como en cetáceos, recibidos por la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario, similar a como lo señalan Alvarado-Rybak et al. (2020), Muñoz (2013) y Seguel et al. (2011), en los cuales se examinaron muestras de especies de mamíferos marinos, determinando su causa de muerte, examinando los principales hallazgos histopatológicos encontrados y graduando el tipo de lesión según su severidad.

6.1 Hallazgos Circulatorios en Muestras de Pinnípedos.

Con respecto al total de las muestras, gran parte de los hallazgos correspondieron a los tipos circulatorio, siendo la congestión y la hiperemia los hallazgos con mayor presentación en ambos grupos, siendo el pulmón (tabla 8) e hígado (tabla 10) los mayormente afectados. Las muestras de pulmón en pinnípedos mostraron una congestión (77%), edema (53%) y hemorragia (40%), semejante a como se indica en Seguel et al. (2011), quienes reportan, en individuos que murieron por inmersión, que la congestión se presentó en (76%), edema (65%) y hemorragia (65%), indicando lesiones sugestivas de hipoxia y lesiones físicas (traumas), como también hallazgos sugerentes a otras patologías respiratorias concomitantes (Gulland et al., 2018).

Si bien los hallazgos de edema tanto en el pulmón como en el cerebro fueron escasos, resultó notable la presencia de estos. En las muestras de encéfalo de pinnípedos, los hallazgos incluyeron hiperemia (75%), congestión (75%) y edema (75%). El edema cerebral puede ser de tipo citotóxico, causado por el aumento del líquido intracelular, o de tipo vasogénico, causado por el aumento del líquido extracelular. Ambos tipos de edema son resultado de diversos tipos de lesiones cerebrales, incluyendo isquemia, trauma y otras condiciones patológicas, siendo la hipoxia (falta de oxígeno) un factor crucial en su desarrollo (Zachary, 2017).

Entendiendo esto, se puede explicar la presencia de edema en las muestras de pinnípedos estudiados como un proceso resultado de la hipoxia, trauma o infección. De manera similar, en Muñoz (2013), los hallazgos en los encéfalos de crías de lobo fino austral, cuya causa de muerte se determinó como enteritis, inanición, asfixia por inmersión, trauma, septicemia, neumonía, entre otros, incluyeron congestión (88.2%) y edema (35.3%).

La presentación de estos hallazgos circulatorios se produce por diversos orígenes: traumático, infeccioso o bien ser una respuesta fisiológica del organismo (Muñoz, 2013), pero el factor isquémico, hipóxico, generado por los distintos orígenes, se destaca como un factor determinante en la aparición de estos hallazgos (Zachary, 2017).

6.2 Hallazgos Inflamatorios en Muestras de Pinnípedos y Cetáceos.

Con relación a los trastornos inflamatorios, en el análisis histopatológico de las muestras, se identificaron varios tipos de inflamación, incluyendo infiltrados linfocitarios, plasmocitarios, eosinofílicos y mixtos, así como peri-vasculitis, lesiones inflamatorias peribronquiales y lesiones inflamatorias vinculadas a parásitos (figura 3). El tipo de infiltrado más común fue el linfocítico, presente en el 38% de los casos, seguida del infiltrado mixto linfoplasmocítico con un 29% (figura 2). Estos hallazgos son indicativos de una respuesta inmune activa en los tejidos examinados de los mamíferos marinos, sugiriendo la presencia y la naturaleza diversa de los desafíos ambientales y patológicos enfrentados por estas especies. Las inflamaciones se observaron principalmente en el estómago y los pulmones, tanto en pinnípedos como en cetáceos (tabla 15).

El infiltrado inflamatorio de tipo linfocítico está relacionado comúnmente con infecciones virales, enfermedades autoinmunes, y reacciones de hipersensibilidad tardía (Zachary, 2017), implicadas en causas de hepatopatías, como en infecciones virales o bacterianas (Gulland et al., 2018), en cambio al infiltrado lindoplasmocítico, se le relaciona a infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias crónicas (Zachary, 2017). Tal como se menciona en Seguel et al. (2018), en individuos de lobos marinos muertos debido a una tromboembolia asociada a una vasculitis pulmonar verminosa,

neumonía linfoplasmocítica, las que llegan a complicarse con infecciones secundarias, causando bronconeumonía grave y muerte. Seguel et al. (2017) menciona este tipo de respuesta inflamatoria intestinal leve o secundaria, frente a la presencia de infecciones masivas por anquilostomas (*Uncinaria sp*), predisponiendo el acortamiento de vellosidades, facilitando la penetración peritoneal y la translocación bacteriana a la sangre.

La diversidad de tipos de infiltrados inflamatorios encontrados refleja la complejidad de las respuestas inflamatorias en diferentes tejidos y órganos de los pinnípedos y cetáceos estudiados. Estos resultados subrayan la importancia de evaluar no sólo la presencia de inflamación, sino también su tipo y localización, para entender mejor el estado de salud de estas poblaciones animales y las amenazas a las que pueden estar expuestas en sus hábitats naturales (Gulland et al., 2018).

6.3 Hallazgos de parásitos en Muestras de Pinnípedos y Cetáceos.

La infestación de parásitos es casi universal en mamíferos marinos, sin embargo, las lesiones son muy dependientes de los factores ambientales y del huésped (Wursig et al., 2017). En relación con esto, en este estudio se determinó la presencia de nemátodos probablemente pertenecientes al género *Metastrongylus* en lumen alveolar y peribronquial, también presencia de parásitos obstruyendo el lumen o adheridos a epitelio intestinal en muestras correspondientes a lobo fino austral (*Arctocephalus australis*) (figura 5 y 6), como también la presencia de parásitos protozoarios del género *Sarcocystis* en músculo de delfín chileno (*Cephalorhynchus eutropia*) (figura 12).

La presencia de parásitos del género *Metastrongylus* está ampliamente documentada en mamíferos marinos (Gulland et al., 2018). Según Fischbach y Seguel (2023), existe una considerable diversidad de especies de *Metastrongylus* que infectan a estos animales, siendo las especies más reportadas *Halocercus hyperoodoni*, *Otostrongylus circumlitus* y *Parafilaroides gymnurus*. Además, Alvarado-Rybak et al. (2020) destacan la neumonía verminosa causada por *Pseudalius inflexus* en marsopas, un conocido parásito pulmonar en esta especie a nivel mundial, que puede causar mortalidad directa o provocar neumonía bacteriana secundaria y muerte. Estos hallazgos permiten explicar los resultados encontrados en el estudio (figura 4 y 5).

Con respecto a la presencia de parásitos gastrointestinales, los hallazgos no fueron significativos, ya que, de los 19 intestinos estudiados, solo el 5,3% presentó parasitosis (figura 6), correspondiente al intestino de lobo fino austral. Sin embargo, los hallazgos relacionados con el tipo de infiltrado eosinofílico presente en la enteritis parasitaria, la unión del parásito a la mucosa intestinal, y la destrucción de las vellosidades son sugestivos de la presencia de *Uncinaria sp.* (Seguel et al., 2017).

6.4 Hallazgos de Necrosis en Muestras de Pinnípedos y Cetáceos.

El estudio de los trastornos necróticos en órganos vitales como el pulmón y el hígado de pinnípedos y cetáceos proporciona información valiosa sobre las patologías que afectan a estas especies (Wursig et al., 2017).

En los hígados de lobo fino austral, se encontraron focos necróticos caseosos rodeados por infiltrado inflamatorio mixto linfoplasmocítico, sugiriendo la formación de granulomas y una reacción inflamatoria crónica, tal como lo señala Ladds (2009), asociada con infecciones bacterianas o parasitarias. De manera similar, los análisis histopatológicos de los pulmones de pinnípedos revelaron necrosis con infiltrados inflamatorios mixtos (linfocitos, macrófagos y células plasmáticas), calcificaciones en las áreas necróticas y hemorragia extensa, indicando daño significativo a procesos infecciosos crónicos o traumáticos (Wursig et al., 2017).

En contraste, los hallazgos en el hígado de la ballena piloto (*Globicephala melas*) mostraron áreas de necrosis centrolobulillar, donde los hepatocitos presentaban características de necrosis coagulativa, Además, se observó la proliferación de conductos biliares y una degeneración grasa difusa en los hepatocitos predominantemente en las zonas periportales pero extendiéndose hacia las áreas centrolobulillares. Hallazgos consistentes con un evento de toxicosis, que puede ser atribuido a la exposición a toxinas ambientales (Bossart, 2011; Zachary, 2017).

6.5 Hallazgos Degenerativos en Muestras de Pinnípedos y Cetáceos.

La degeneración mucosa observada en las muestras de intestino tanto en pinnípedos 87% como en cetáceos 25% (tabla 13), presentándose en mayor proporción para ambas clasificaciones de score 3, con un 100% para muestras de cetáceos y un 46%

en pinnípedos. Los hallazgos sugirieron un daño epitelial severo que podría haber comprometido la absorción y digestión de nutrientes, Este hallazgo también puede estar asociado a infecciones crónicas o exposición a sustancias tóxicas (Gulland et al., 2018), equivalente a como expresa Seguel et al. (2011), con la presencia de lobos muertos por inanición, junto con parasitosis en la presentación de enteritis parasitaria crónicas.

6.6 Hallazgos del Crecimiento Celular en Muestras de Pinnípedos y Cetáceos.

En cuanto a los trastornos del crecimiento celular, la hiperplasia de la pulpa blanca y roja en el bazo indica una respuesta inmunológica activa y junto a la proliferación marcada de centros germinales sugiriendo una respuesta del sistema inmunológico de estos animales a una amenaza o estímulo continuo (Duignan et al., 2014). La hiperplasia de la pulpa blanca (tabla 14) se presentó un 64% en bazos de pinnípedos y un 50% en cetáceos, siendo un gran porcentaje de score 3, en ambos grupos, esto asociado a respuestas inmunitarias, como en casos de infecciones virales o bacterianas subagudas a crónicas, tal como se indica en Gulland et al. (2018).

6.7 Hallazgos de Autólisis en Muestras de Pinnípedos

Otros hallazgos que vale la pena mencionar es la presencia de autólisis, especialmente prevalente en las muestras de riñón, lo que señala una degradación *post-mortem* significativa que puede dificultar la interpretación de los hallazgos histológicos (Gulland et al., 2018). También llamando la atención la presencia casi del total de las muestras obtenidas del cachalote (*Physeter macrocephalus*) y de la ballena fin (*Balaenoptera physalus*), siendo dificultoso la diferenciación entre cambios patológicos y artefactos, esto se puede explicar por el tiempo transcurrido entre la muerte del animal y la preservación de las muestras, un intervalo prolongado permite que las enzimas continúen degradando los tejidos, lo que resulta en autólisis (Gulland et al., 2018). En ambientes marinos, la recuperación de los cuerpos puede llevar más tiempo debido a la ubicación remota o la necesidad de transporte desde el sitio de hallazgo (Alvarado-Rybak et al., 2020).

7. CONCLUSIONES

El presente estudio proporcionó una caracterización exhaustiva de los hallazgos histopatológicos en órganos de mamíferos marinos recibidos por la Unidad de Morfología y Diagnóstico Veterinario de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia, durante el periodo 2014-2023. La investigación permitió identificar, relacionar y comparar diversos trastornos histopatológicos en especies de pinnípedos y cetáceos, lo que contribuye significativamente al entendimiento de las patologías que afectan a estas especies.

1. Identificación de hallazgos histopatológicos:

- Se lograron identificar diversos hallazgos histopatológicos en los órganos de mamíferos marinos analizados, incluyendo trastornos circulatorios, degenerativos, necróticos, inflamatorios y del crecimiento celular. Entre los hallazgos más comunes se encontraron la congestión, hiperemia, hemorragia y edema, siendo estos más prevalentes en los tejidos de pulmón y encéfalo tanto de pinnípedos como de cetáceos.

2. Relación de hallazgos con patologías descritas en la literatura:

- Los hallazgos histopatológicos observados fueron congruentes con las patologías descritas en la literatura, la variedad de hallazgos histopatológicos en estos estudios sugiere múltiples etiologías subyacentes. La formación de granulomas, necrosis coagulativa, calcificaciones y el infiltrado inflamatorio indican la presencia de infecciones crónicas, respuestas inflamatorias persistentes y posibles exposiciones a toxinas. Estos resultados subrayan la necesidad de investigaciones adicionales para identificar las causas específicas de estas patologías y desarrollar estrategias de manejo y conservación para estas especies marinas.

3. Comparación entre pinnípedos y cetáceos:

- Al comparar los hallazgos histopatológicos entre pinnípedos y cetáceos, se observaron diferencias significativas en la presentación y severidad de los trastornos. Los cetáceos presentaron un mayor porcentaje de degeneración grasa y tumefacción turbia en el hígado, mientras que los pinnípedos mostraron una mayor prevalencia de infiltrado inflamatorio multifocal. Estas diferencias resaltan la necesidad de considerar las particularidades de cada grupo al interpretar los hallazgos histopatológicos

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguayo, A., Acevedo, J., Vargas, R., N, M., y Aurora, N. (2006). DIVERSIDAD DE MAMÍFEROS MARINOS EN LAS AGUAS DEL ARCHIPIÉLAGO DE LOS CHONOS (43°39' S - 45°50' S), XI REGIÓN DE CHILE. *Revista de Ciencia y Tecnología del Mar (CONA)*, 29, 129–145.
https://www.researchgate.net/publication/238768254_DIVERSIDAD_DE_MAMIFEROS_MARINOS_EN_LAS_AGUAS_DEL_ARCHIPIELAGO_DE_LOS_CHONOS_4339'_S_-_4550'_S_XI_REGION_DE_CHILE
- Aguayo, A., Torres, D., y Acevedo, J. (1998). Marine Mammals of Chile: 1. Cetacea. *Serie Científica INACH*, 48, 19–159.
https://www.researchgate.net/publication/256903622_Marine_Mammals_of_Chile_1_Cetacea
- Allen, S. G., Mortenson, J., y Webb, S. (2011). *Field guide to marine mammals of the pacific coast*. University of California Press.
<https://www.proquest.com/docview/2131177855/3F3855ECCC364D07PQ/1>
- Alvarado-Rybak, M., Toro, F., Abarca, P., Paredes, E., Español-Jiménez, S., y Seguel, M. (2020). Pathological findings in cetaceans sporadically stranded along the Chilean coast. *Front. Mar. Sci.*, 7.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00684>
- Asociación de Médicos Veterinarios de Fauna Silvestre de Chile [AMEVEFAS]. (2017). *Manual de Necropsia de Odontocetos*.
- Bancroft, J. D., Suvarna, S. K., y Layton, C. (2019). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, Eighth Edition. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, Eighth Edition*, 1–557. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-00143-5>
- Barría, C. (2023). *Hallazgos Histopatológicos En Órganos De Ejemplares De Visón (Neovison Vison) De Las Regiones De Los Ríos Y Los Lagos*.
- Berta, A., Sumich, J. L., y Kovacs, K. M. (2005). *Marine mammals: Evolutionary biology* (2ª ed.). Academic Press.
<https://www.proquest.com/docview/2131955589/C9DC3D94587E4605PQ/2>
- Bossart, G. D. (2011). Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Vet. Pathol.*, 48(3), 676–690. <https://doi.org/10.1177/0300985810388525>
- Brennecke, D., Knickmeier, K., Pawliczka Iwona and Siebert, U., y Wahlberg, M. (2023). *Marine mammals: A deep dive into the world of science*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-06836-2>

- Brooks, J. W. (2018). Veterinary forensic pathology. En *Veterinary Forensic Pathology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-67172-7>
- Buckles, E. L., Lowenstine, L. J., Funke, C., Vittore, R. K., Wong, H. N., St Leger, J. A., Greig, D. J., Duerr, R. S., Gulland, F. M. D., y Stott, J. L. (2006). Otarine Herpesvirus-1, not Papillomavirus, is Associated with Endemic Tumours in California Sea Lions (*Zalophus californianus*). *Journal of Comparative Pathology*, 135(4), 183–189. <https://doi.org/10.1016/J.JCPA.2006.06.007>
- De Groote Páez, F. (2007). “Hallazgos Cardiorespiratorios En Crías De Lobo Fino Austral (*Arctocephalus Australis*, Zimmerman 1783) Muertos En Isla Guafo, Región De Los Lagos, Chile”. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fvg876h/doc/fvg876h.pdf>
- D’Elía, G., Canto, J., Ossa, G., Verde-Arregoitia, L. D., Bostelmann, E., Iriarte, A., Amador, L., Quiroga-Carmona, M., Hurtado, N., Cadenillas, R., y Valdez, L. (2020). Lista actualizada de los mamíferos vivos de Chile. *Bol. Mus. Nac. Hist. Nat. (Chile)*, 69(2), 67–98. <https://doi.org/10.54830/bmnhn.v69.n2.2020.6>
- Duignan, P., Van Bresseem, M.-F., Baker, J., Barbieri, M., Colegrove, K., De Guise, S., de Swart, R., Di Guardo, G., Dobson, A., Duprex, W., Early, G., Fauquier, D., Goldstein, T., Goodman, S., Grenfell, B., Groch, K., Gulland, F., Hall, A., Jensen, B., ... Wellehan, J. (2014). Phocine distemper virus: Current knowledge and future directions. *Viruses*, 6(12), 5093–5134. <https://doi.org/10.3390/v6125093>
- Fischbach, J. R., y Seguel, M. (2023). A systematic review of the diversity and virulence correlates of metastrongyle lungworms in marine mammals. En *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.02.03.527020>
- Godoy, M., Oca, M. M. de, Caro, D., Pontigo, J. P., Kibenge, M., y Kibenge, F. (2023). Evolution and Current Status of Influenza A Virus in Chile: A Review. *Pathogens*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS12101252/S1>
- Gonzales-Viera, O., C., A., Yaipen-Llanos, C., y Perales, R. (2011). Histopathological aspects and etiology of pneumonias in stranded marine mammals from Lima, Peru. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 4. https://www.researchgate.net/publication/267845806_Histopathological_aspects_and_etiology_of_pneumonias_in_stranded_marine_mammals_from_Lima_Peru
- Gulland, F., Dierauf, L. A., y Whitman, K. L. (Eds.). (2018). *CRC handbook of marine mammal medicine* (3ª ed.). Productivity Press.
- Gulland, F. M. D., Koski, M., Lowenstine, L. J., Colagross, A., Morgan, L., y Spraker, T. (1996). LEPTOSPIROSIS IN CALIFORNIA SEA LIONS (*ZALOPHUS CALIFORNIANUS*) STRANDED ALONG THE CENTRAL

- CALIFORNIA COAST, 1981-1994. *Jiaas, fl4fl1*, 572–550.
http://meridian.allenpress.com/jwd/article-pdf/32/4/572/2235519/0090-3558-32_4_572.pdf
- Hermosilla, C., Silva, L. M. R., Navarro, M., y Taubert, A. (2016). Anthropozoonotic Endoparasites in Free-Ranging “Urban” South American Sea Lions (*Otaria flavescens*). *Journal of Veterinary Medicine*, 2016, 7507145.
<https://doi.org/10.1155/2016/7507145>
- Herráez, P., Espinosa de los Monteros, A., Fernández, A., Edwards, J. F., Sacchini, S., y Sierra, E. (2013). Capture myopathy in live-stranded cetaceans. *The Veterinary Journal*, 196(2), 181–188.
<https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2012.09.021>
- Ijsseldijk, L. L., Scheidat, M., Siemensma, M. L., Couperus, B., Leopold, M. F., Morell, M., Gröne, A., y Kik, M. J. L. (2021). Challenges in the Assessment of Bycatch: Postmortem Findings in Harbor Porpoises (*Phocoena phocoena*) Retrieved From Gillnets. *Veterinary Pathology*, 58(2), 405–415.
https://doi.org/10.1177/0300985820972454/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0300985820972454-FIG2.JPEG
- Jefferson, T. A., Webber, M. A., y Pitman, R. L. (2015). *Marine Mammals of the world: A comprehensive guide to their identification* (2^a ed.). Academic Press.
<https://www.proquest.com/docview/2148133219/101DD761E3DE4587PQ/1?accountid=26111yforcedol=true>
- Kalthoff, D., Globig, A., y Beer, M. (2010). (Highly pathogenic) avian influenza as a zoonotic agent. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 237–245.
<https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2009.08.022>
- Ladds, P. W. (2009). *Pathology of Australian native wildlife*. CSIRO Pub.
- Moore, M. J., Van Der Hoop, J., Barco, S. G., Costidis, A. M., Gulland, F. M., Jepson, P. D., Moore, K. T., Raverty, S., y McLellan, W. A. (2013). Criteria and case definitions for serious injury and death of pinnipeds and cetaceans caused by anthropogenic trauma. *Diseases of Aquatic Organisms*, 103(3), 229–264.
<https://doi.org/10.3354/DAO02566>
- Muñoz, F. (2013). *Hallazgos Histopatológicos En Encéfalos De Crías De Lobo Fino Austral (Arctophoca Australis Gracilis, Zimmerman, 1783) De Isla Guafo, Región De Los Lagos, Chile*.
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fvm971h/doc/fvm971h.pdf>
- Newman, S. J., y Smith, S. A. (2006). Marine Mammal Neoplasia: A Review. *Veterinary Pathology*, 43(6), 865–880. <https://doi.org/10.1354/VP.43-6-865>
- Paredes, E., y Cubillos, V. (1995). *Manual de necropsia en animales domésticos y envío de muestras a laboratorio*. [s.n].

- Paredes, E., y Cubillos, V. (2006). PATOLOGÍA GENERAL y SISTEMÁTICA (PANI 141). En www.academia.edu.
https://www.academia.edu/27797248/PATOLOG%C3%8DA_GENERAL_Y_SIS-TEMATICA_PANI_141
- Pugliares, K. R., Bogomolni, A., Touhey, K. M., Herzig, S. M., Harry, C. T., y Moore, M. J. (2007). *Marine mammal necropsy: an introductory guide for stranding responders and field biologists*. Woods Hole Oceanographic Institution.
<https://doi.org/10.1575/1912/1823>
- Rehtanz, M., Bossart, G. D., Fair, P. A., Reif, J. S., Ghim, S. je, y Jenson, A. B. (2012). Papillomaviruses and herpesviruses: Who is who in genital tumor development of free-ranging Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)? *Veterinary Microbiology*, 160(3–4), 297–304.
<https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2012.05.042>
- Seguel, M., George, R. C., Maboni, G., Sanchez, S., Page-Karjian, A., Wirth, E., McFee, W., y Gottdenker, N. L. (2020). Pathologic findings and causes of death in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* stranded along the Georgia coast, USA (2007–2013). *Diseases of Aquatic Organisms*, 141, 25–38.
<https://doi.org/10.3354/dao03509>
- Seguel, M., Montalva, F., Perez-Venegas, D., Gutiérrez, J., Paves, H. J., Müller, A., Valencia-Soto, C., Howerth, E., Mendiola, V., y Gottdenker, N. (2018). *Immune-mediated hookworm clearance and survival of a marine mammal decrease with warmer ocean temperatures*. <https://doi.org/10.7554/eLife.38432.001>
- Seguel, M., Muñoz, F., Navarrete, M. J., Paredes, E., Howerth, E., y Gottdenker, N. (2017). Hookworm infection in South American fur seal (*Arctocephalus australis*) pups: Pathology and factors associated with host tissue damage and mortality. *Vet. Pathol.*, 54(2), 288–297. <https://doi.org/10.1177/0300985816677151>
- Seguel, M., Nadler, S., Field, C., y Duignan, P. (2018). Vasculitis and Thrombosis due to the Sea Lion Lungworm, *Parafilaroides decorus*, in a Guadalupe Fur Seal (*Arctocephalus philippii townsendi*). *J. Wildl. Dis.*, 54(3), 638–641.
<https://doi.org/10.7589/2017-12-291>
- Seguel, M., Paredes, E., Pavés, H., y Gottdenker, N. L. (2014). Capture-induced stress cardiomyopathy in South American fur seal pups (*Arctophoca australis gracilis*). *Mar. Mamm. Sci.*, 30(3), 1149–1157.
<https://doi.org/10.1111/mms.12079>
- Seguel, M., Paredes, E., Pavés, H., Molina, R., Henríquez, F., De Groot, F., y Schlatter, R. (2011). Pathological Findings in South American Fur Seal Pups (*Arctocephalus australis gracilis*) found Dead at Guafo Island, Chile. *J. Comp. Pathol.*, 145(2–3), 308–317. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2011.01.006>

- Seguel, M., y Pavés, H. J. (2018). Sighting patterns and habitat use of marine mammals at Guafo Island, Northern Chilean Patagonia during eleven austral summers. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 53(2), 237–250.
<https://doi.org/10.22370/rbmo.2018.53.2.1296>
- Sepúlveda, M. A., Seguel, M., Alvarado-Rybak, M., Verdugo, C., Muñoz-Zanzi, C., y Tamayo, R. (2015). Postmortem findings in four south American sea lions (*Otaria byronia*) from an urban colony in Valdivia, Chile. *J. Wildl. Dis.*, 51(1), 279–282. <https://doi.org/10.7589/2013-07-161>
- Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. (2019). Rescates y Varamientos de Fauna Marina 2019. En *Sernapesca.cl*.
http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/informe_de_rescates_y_varamientos_2019.pdf
- Sierra, E., Espinosa de los Monteros, A., Fernández, A., Díaz-Delgado, J., Suárez-Santana, C., Arbelo, M., Sierra, M. A., y Herráez, P. (2017). Muscle Pathology in Free-Ranging Stranded Cetaceans. *Veterinary Pathology*, 54(2), 298–311.
https://doi.org/10.1177/0300985816660747/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0300985816660747-FIG3.JPEG
- Sierra, E., Fernández, A., Espinosa De Los Monteros, A., Arbelo, M., Díaz-Delgado, J., Andrada, M., y Herráez, P. (2014). Histopathological Muscle Findings May Be Essential for a Definitive Diagnosis of Suspected Sharp Trauma Associated with Ship Strikes in Stranded Cetaceans. *PLoS ONE*, 9(2).
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0088780>
- Society for Marine Mammalogy. (2023). Lista de especies y subespecies de mamíferos marinos. En *Marinemammalscience.org*.
<https://marinemammalscience.org/science-and-publications/list-marine-mammal-species-subspecies/>
- Torres, D., Aguayo-Lobo, A., y Acevedo, J. (2000). Los Mamíferos Marinos de Chile: II. Carnívora. *Serie Científica INACH*, 50, 25–103.
https://www.researchgate.net/publication/263599600_Los_Mamiferos_Marinos_de_Chile_II_Carnivora
- Torres, P., Oporto, J. A., Brieva, L. M., y Escare, L. (1992). Gastrointestinal helminths of the cetaceans *Phocoena spinipinnis* (Burmeister, 1865) and *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846) from the southern coast of Chile. *J. Wildl. Dis.*, 28(2), 313–315. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.2.313>
- Ulloa, M., Fernández, A., Ariyama, N., Colom-Rivero, A., Rivera, C., Nuñez, P., Sanhueza, P., Johow, M., Araya, H., Torres, J. C., Gomez, P., Muñoz, G., Agüero, B., Alegría, R., Medina, R., Neira, V., y Sierra, E. (2023). Mass mortality event in South American sea lions (*Otaria flavescens*) correlated to highly

pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 outbreak in Chile. *The Veterinary Quarterly*, 43(1), 1. <https://doi.org/10.1080/01652176.2023.2265173>

Van Bresse, M.-F., Duignan, P., Banyard, A., Barbieri, M., Colegrove Kathleen and De Guise, S., Di Guardo, G., Dobson Andrew and Domingo, M., Fauquier, D., Fernandez Antonio and Goldstein, T., Grenfell, B., Groch Kátia and Gulland, F., Jensen, B., Jepson, P., Hall, A., Kuiken, T., Mazzariol, S., Morris, S., Nielsen, O., Raga, J., ... Wellehan, J. (2014). Cetacean morbillivirus: Current knowledge and future directions. *Viruses*, 6(12), 5145–5181. <https://doi.org/10.3390/v6125145>

Waltzek, T. B., Cortés-Hinojosa, G., Wellehan, J. F. X., y Gray, G. C. (2012). Marine mammal zoonoses: A review of disease manifestations. *Zoonoses and Public Health*, 59(8), 521–535. <https://doi.org/10.1111/J.1863-2378.2012.01492.X>

Wursig, B., J. G. M. “Hans” Thewissen, y Kovacs, K. M. (Eds.). (2017). *Encyclopedia of marine mammals* (3^a ed.). Academic Press.
<https://www.proquest.com/docview/2134070230/3F5A87FC7093432APQ/11>

Zachary, J. F. (2017). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Mosby.

9. ANEXOS

9.2 Anexo 1. Adaptación de Procedimientos Técnicos de “Manual de procedimientos del laboratorio de histopatología veterinaria”, por J. Muená, y F. Vera, 2021.



Facultad de Medicina Veterinaria
Carrera Medicina Veterinaria
Sede de la Patagonia

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA VETERINARIA

TM. Jazmín Muená Meneses – Dr. Frank Vera Otárola

Puerto Montt, 2021

2. Procedimientos Técnicos

2.1 Fijación Tisular:

La fijación de tejidos o células consiste en la detención de los procesos de putrefacción y autólisis que inician inmediatamente después de la muerte, estos pueden producir cambios morfológicos y estructurales indeseados para el correcto análisis y diagnóstico. Por tanto, el tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta el contacto con el fijador debe ser el mínimo posible.

Existen métodos de fijación físicos y químicos, siendo los más efectivos los de tipo químicos, entonces hablaremos principalmente de líquidos fijadores. Si bien existen diversos tipos de líquidos fijadores, en el Laboratorio de Histopatología veterinaria de la USS utilizamos el fijador de rutina, es decir, Formalina al 10% neutralizada.

El Formaldehído comercialmente obtenido al 37 o 40%, es un fijador que forma enlaces con las proteínas de los tejidos y su efecto es conseguido de forma segura cuando es diluido con agua al 10%. Por tanto, de la solución comercial se diluye 1 parte del fijador en 9 partes de agua y es neutralizado a saturación con carbonato de calcio, esta mezcla es conocida como formol o formalina al 10% neutralizada. La preparación debe ser con elementos de protección y bajo campana de extracción de gases.

Para lograr una correcta fijación de la muestra se debe tener en cuenta que la proporción muestra fijador debe ser 1:10 y el tiempo que demora en fijar depende del tamaño de la misma muestra, por tanto, para muestras mas pequeñas (menos a 5 mm) deben permanecer embebidas en formalina por al menos 24 horas a temperatura ambiente.

Otro fijador en el laboratorio es el metanol, este es utilizado para fijar los extendidos citológicos. Y su manipulación es mínima, su forma comercial esta lista para usar, los portaobjetos se sumergen por unos segundos en el liquido y se dejan secar al aire.

2.2 Microscopía y Dictado:

Corresponde al inicio del procesamiento histopatológico, se realiza a muestras provenientes de biopsias o necropsias que han cumplido con el tiempo óptimo de fijación. Este ítem es importante para guiar al análisis y posterior diagnóstico del caso.

Es llevado a cabo por el MV Patólogo en conjunto con la TM, en este paso el médico observa macroscópicamente y hace una descripción de la muestra en cuanto a forma, color, consistencia y otros, además se realiza medición del tamaño y registro fotográfico. La TM toma dictado y anota los antecedentes en la hoja de solicitud del caso.

Por último, el MV Patólogo procede a seccionar la/las muestras y selecciona uno o más fragmentos de aproximadamente 2 mm de espesor que será representativo de la lesión, se encapsulan en histocassette de plástico identificados con el número de caso correspondiente para continuar con el procesamiento.

2.3 Inclusión de la muestra:

Este paso del procesamiento histológico tiene por objetivo reemplazar toda el agua del interior del tejido por un medio mas consistente, en este caso se forman tacos de parafina que contienen en su interior la muestra de tejido. Esto permitirá obtener cortes de tejido finos (3 a 5 μ m) y seriados para ser observados bajo el microscopio óptico.

La inclusión requiere de una serie de sub-pasos para lograr su propósito final:

- a) Deshidratación: se realiza con una batería de alcoholes etílicos ascendente (70°, 95° y 100°), las muestras se sumergen en cada estación.
- b) Aclaramiento: se utiliza xilol, un líquido intermediario que es miscible tanto con el alcohol absoluto como con la parafina, las muestras son sumergidas en este líquido que además proporciona al tejido un poco de transparencia.
- c) Impregnación o infiltración: con parafina en estado líquido, a altas temperaturas (58 a 65 °C), las muestras son sumergidas para que la parafina ingrese en su interior.
- d) Formación del taco o molde: posterior a la completa infiltración y con la ayuda de moldes de metal, la muestra se introduce en parafina que será sólida a temperatura ambiente.

2.4 Microtomía:

Consiste en obtener cortes finos y seriados, idealmente de no más 5 μm de espesor y obteniendo una cinta de parafina con tejido. Para lograr este paso se utiliza el micrótopo, un instrumento mecánico y de precisión que permite obtener este tipo de cortes. En el Laboratorio contamos con un microtomo de rotación, lo que significa que la muestra es móvil y la navaja de corte fija.

Una vez obtenidos los cortes, las cintas deben ser estiradas sobre agua tibia (40 °C aprox.) que se mantiene en un recipiente eléctrico llamado baño de flotación. La temperatura del agua permite calentar la parafina junto con el tejido y así estirar los cortes, permitiendo como parte final de esta etapa adherir los cortes sobre portaobjetos que se dejan secar en estufa a 70 °C por mínimo una hora.

2.5 Desparafinación:

Es el proceso mediante el cual se retira toda la parafina del tejido, infiltrada y que encapsula. La parafina no permite el ingreso de los colorantes hacia el tejido, entonces se utiliza xilol que en este caso disuelve el medio consistente dejando solo el tejido adherido al vidrio.

Este proceso termina una vez que la muestra de tejido es nuevamente hidratada, para esto se sumergen los portaobjetos en una batería de alcoholes descendente (100°, 95° y 70°) que finaliza con agua destilada.

2.6 Tinción o Coloración:

El tejido debe ser teñido o coloreado para observar contraste entre los diferentes componentes estructurales, se aplica la tinción de rutina hematoxilina y eosina (HE), la cual proporciona diferenciación entre núcleo y citoplasma principalmente. Se aplican ambos colorantes de forma sucesiva.

La hematoxilina es considerada un colorante nuclear, tiñe principalmente los componentes ácidos del tejido como los ácidos nucleicos que se encuentran en el núcleo de la célula. Cuando un componente es teñido por este colorante se dice que es basofílico, es decir, que tiene afinidad por la hematoxilina que es un colorante que se comporta de forma básica.

La eosina es considerada como el colorante citoplasmático, tiñe principalmente componentes básicos del tejido y la mayoría de los componentes del citoplasma son de este tipo, además de diversos elementos extracelulares. Cuando un componente es

teñido por este colorante se dice que es eosinofílico o acidofílico, ya que, tiene afinidad por la eosina que es un colorante ácido.

2.7 Deshidratación y Montaje:

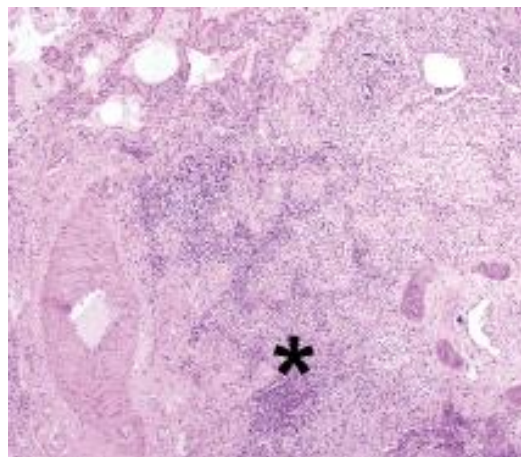
Con el propósito de conservar las muestras teñidas de forma permanente, luego de la coloración se realiza nuevamente una deshidratación, con una batería de alcoholes ascendente (70°, 95° y 100°) se elimina el agua en el interior del tejido que esta vez es de un espesor mucho menor (micrones).

Posteriormente se aclara en xilol, esta vez el líquido intermediario tiene la principal función de transparentar un poco el tejido. Lo que faculta una observación al microscopio óptico de mejor calidad, permite un mejor paso de la luz a través de la muestra.

Para finalizar el procesamiento histológico es necesario cubrir la muestra con un cubreobjetos, vidrio de menor espesor que es adherido a la muestra en el portaobjetos con la ayuda de una resina sintética, la cual, al secarse permite que la muestra quede completamente aislada y el preparado permanece en el tiempo.

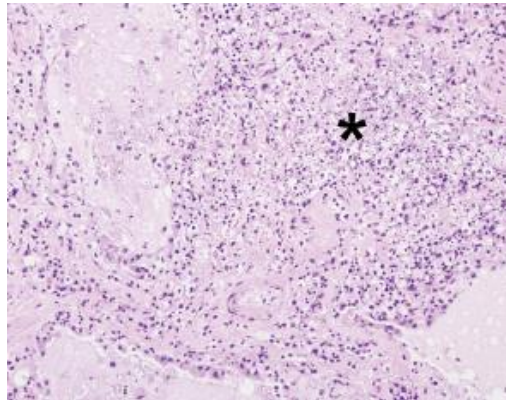
10.2 Anexo 2. Ejemplos de variables que se consideraran para el análisis histopatológico.

➤ **Inflamación**



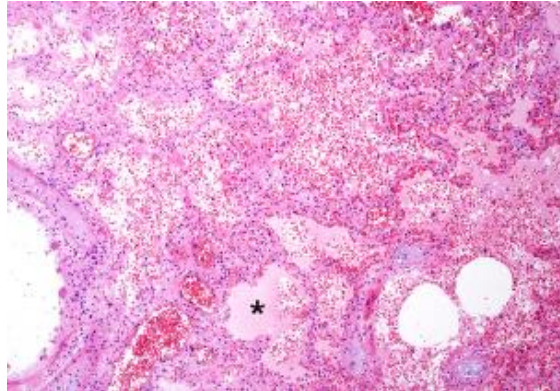
Infiltrado inflamatorio, parénquima pulmonar (Seguel et al., 2020)

➤ **Necrosis**



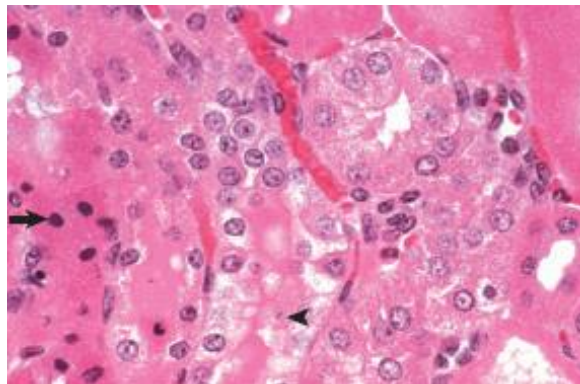
Neumonía intersticial necrotizante (Seguel et al., 2020)

➤ **Trastornos circulatorios**

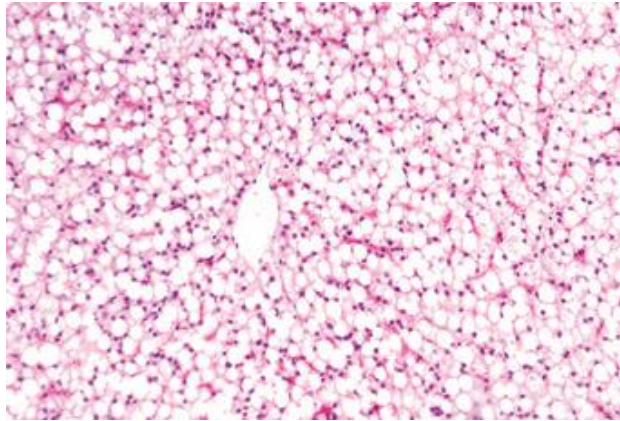


Edema alveolar y hemorragia (Alvarado-Rybak et al., 2020)

➤ **Trastornos degenerativos**

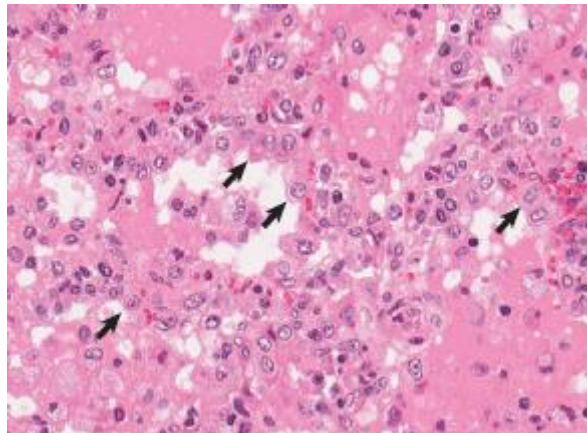


Células epiteliales tubulares con degeneración hidrópica y necrosis, picnosis (flecha) o cariólisis (cabeza de flecha) (Zachary, 2017)



Degeneración grasa, hígado (Zachary, 2017)

➤ **Trastornos del crecimiento**



Engrosamiento de los septos alveolares con hiperplasia de neumonocitos de tipo II (flechas)
(Zachary, 2017)

11.2 Anexo 3. SCORE PINNÍPEDOS.

Organos	Numero organos	Trastornos	Hallazgos	Nº de casos/hallazgos	% Hallazgos por organo	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2	SCORE 3	Score 0 (%)	Score 1 (%)	Score 2 (%)	Score 3 (%)
Bazo	14	Circulatorio	Congestion	4	29%	10		4		71%	0%	100%	0%
Bazo	14	Circulatorio	Hiperemia	4	29%	10	3	1		71%	75%	25%	0%
Bazo	14	Circulatorio	Hemorragia	1	7%	13			1	93%			
Bazo	14	Inflamatorio	Inflamatorios	3	21%	11	2		1	79%	67%	0%	33%
Bazo	14	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Degenerativo	Hemosiderosis	9	64%	5	5	3	1	36%	56%	33%	11%
Bazo	14	Degenerativo	Calcificación	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Necrotico	Necroticos	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	14				100%			
Bazo	14	Del crecimiento	Hiperplasia pulpa blanca	9	64%	5		2	7	36%	0%	22%	78%
Bazo	14	Del crecimiento	Hiperplasia pulpa roja	3	21%	11			3	79%	0%	0%	100%
Corazón	18	Circulatorio	Congestion	4	22%	14	1	2	1	78%	25%	50%	25%
Corazón	18	Circulatorio	Hiperemia	5	28%	13	2	1	2	72%	40%	20%	40%
Corazón	18	Circulatorio	Hemorragia	5	28%	13	1	2	2	72%	20%	40%	40%
Corazón	18	Circulatorio	Edema	1	6%	17		1		94%	0%	100%	0%
Corazón	18	Circulatorio	Anemia	1	6%	17	1			94%			
Corazón	18	Inflamatorio	Inflamatorios	2	11%	16	1		1	89%			
Corazón	18	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Degenerativo	Deg. Hialina	4	22%	14	2	2		78%	50%	50%	0%
Corazón	18	Degenerativo	Calcificación	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Necrotico	Necroticos	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	18				100%			
Corazón	18	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	18				100%			
Encefalo	4	Circulatorio	Congestion	3	75%	1	1	2		25%	33%	67%	0%
Encefalo	4	Circulatorio	Hiperemia	3	75%	1	1	2		25%	33%	67%	0%
Encefalo	4	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	4				100%			
Encefalo	4	Circulatorio	Edema	3	75%	1		1	2	25%	0%	33%	67%
Encefalo	4	Inflamatorio	Inflamatorios	2	50%	2		1	1	50%	0%	50%	50%
Encefalo	4	Degenerativo	Deg. de la Fibra Nerviosa	1	25%	3			1	75%	0%	0%	100%
Encefalo	4	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	4				100%			
Encefalo	4	Necrotico	Necroticos	0	0%	4				100%			
Encefalo	4	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	4				100%			
Encefalo	4	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	4				100%			
Encefalo	4	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	4				100%			
Estomago	9	Circulatorio	Congestion	3	33%	6	1	1	1	67%	33%	33%	33%
Estomago	9	Circulatorio	Hiperemia	5	56%	4	3	1	1	44%	60%	20%	20%
Estomago	9	Circulatorio	Hemorragia	7	78%	2	1	5	1	22%	14%	71%	14%
Estomago	9	Circulatorio	Anemia	0	0%	9				100%			
Estomago	9	Inflamatorio	Inflamatorios	6	67%	3	2	4		33%	33%	67%	0%
Estomago	9	Degenerativo	Deg. Mucosa	2	22%	7	2			78%	100%	0%	0%
Estomago	9	Necrotico	Necroticos	0	0%	9				100%			
Estomago	9	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	9				100%			
Estomago	9	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	9				100%			
Estomago	9	Del crecimiento	Hiperplasia	2	22%	7	1	1		78%	50%	50%	0%
Higado	24	Circulatorio	Congestion	16	67%	8	4	3	9	33%	25%	19%	56%
Higado	24	Circulatorio	Hiperemia	15	63%	9	3	4	8	38%	20%	27%	53%
Higado	24	Circulatorio	Hemorragia	6	25%	18	1	1	4	75%	17%	17%	67%
Higado	24	Circulatorio	Anemia	1	4%	23		1		96%			
Higado	24	Inflamatorio	Inflamatorio	5	21%	19	3	1	1	79%	60%	20%	20%
Higado	24	Degenerativo	Tumefacción turbia	13	54%	11	5	5	3	46%	38%	38%	23%
Higado	24	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	24				100%			
Higado	24	Degenerativo	Deg. Grasa	12	50%	12	1	7	4	50%	8%	58%	33%
Higado	24	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	24				100%			

Higado	24	Degenerativo	Calcificación	1	4%	23	1			96%			
Higado	24	Degenerativo	Hemosiderosis	1	4%	23	1			96%			
Higado	24	Degenerativo	Ictericia	0	0%	24				100%			
Higado	24	Necrotico	Necrotico	2	8%	22		1	1	92%	0%	50%	50%
Higado	24	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	24				100%			
Higado	24	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	24				100%			
Higado	24	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	24				100%			
Higado	24	Del crecimiento	Hiperplasia de conductos biliares	3	13%	21		2	1	88%	0%	67%	33%
Intestinos	15	Circulatorio	Congestion	1	7%	14	1			93%	100%	0%	0%
Intestinos	15	Circulatorio	Hiperemia	1	7%	14	1			93%	100%	0%	0%
Intestinos	15	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	15				100%			
Intestinos	15	Circulatorio	Anemia	0	0%	15				100%			
Intestinos	15	Inflamatorio	Inflamatorios	4	27%	11	2	1	1	73%	50%	25%	25%
Intestinos	15	Degenerativo	Deg. Mucosa	13	87%	2	2	5	6	13%	15%	38%	46%
Intestinos	15	Necrotico	Necroticos	0	0%	15				100%			
Intestinos	15	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	15				100%			
Intestinos	15	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	5				33%			
Intestinos	15	Del crecimiento	Hiperplasia	5	33%	10	3	1	1	67%			
Musculo	5	Circulatorio	Congestion	1	20%	4	1			80%	100%	0%	0%
Musculo	5	Circulatorio	Hiperemia	1	20%	4	1			80%	100%	0%	0%
Musculo	5	Circulatorio	Hemorragia	2	40%	3	1	1		60%	50%	50%	0%
Musculo	5	Circulatorio	Anemia	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Inflamatorio	Inflamatorios	1	20%	4	1			80%			
Musculo	5	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Necrotico	Necroticos	1	20%	4		1		80%			
Musculo	5	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	5				100%			
Musculo	5	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	5				100%			
Nodulos	3	Circulatorio	Congestion	1	33%	2		1		67%	0%	100%	0%
Nodulos	3	Circulatorio	Hiperemia	1	33%	2		1		67%	0%	100%	0%
Nodulos	3	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	3				100%			

Nodulos	3	Circulatorio	Edema	0	0%	3				100%			
Nodulos	3	Inflamatorio	Inflamatorios	2	67%	1		2		33%	0%	0%	100%
Nodulos	3	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	3				100%			
Nodulos	3	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	3				100%			
Nodulos	3	Degenerativo	Ictericia	0	0%	3				100%			
Nodulos	3	Necrotico	Necroticos	1	33%	2		1		67%	0%	0%	100%
Nodulos	3	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	3				100%			
Nodulos	3	Del crecimiento	Hiperplasia	2	67%	1		2		33%	0%	0%	100%
Pulmón	30	Circulatorio	Congestion	23	77%	7	1	9	13	23%	4%	39%	57%
Pulmón	30	Circulatorio	Hiperemia	25	83%	5	2	12	11	17%	8%	48%	44%
Pulmón	30	Circulatorio	Hemorragia	12	40%	18	2	1	9	60%	17%	8%	75%
Pulmón	30	Circulatorio	Edema	16	53%	14	3	7	6	47%	19%	44%	38%
Pulmón	30	Circulatorio	Anemia	0	0%	30				100%			
Pulmón	30	Inflamatorio	Inflamatorio	17	57%	13	2	10	5	43%	12%	59%	29%
Pulmón	30	Necrotico	Necrotico	2	7%	28		1	1	93%	0%	50%	50%
Pulmón	30	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	30				100%			
Pulmón	30	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	30				100%			
Pulmón	30	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	30				100%			
Riñon	23	Circulatorio	Congestion	13	57%	10	3	6	4	43%	23%	46%	31%
Riñon	23	Circulatorio	Hiperemia	13	57%	10	6	3	4	43%	46%	23%	31%
Riñon	23	Circulatorio	Hemorragia	9	39%	14	1	3	5	61%	11%	33%	56%
Riñon	23	Circulatorio	Anemia	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Inflamatorio	Inflamatorio	3	13%	20	2	1		87%	67%	33%	0%
Riñon	23	Degenerativo	Tumefacción turbia	6	26%	17	1	4	1	74%	17%	67%	17%
Riñon	23	Degenerativo	Deg. Hidropica	2	9%	21		1	1	91%			
Riñon	23	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Degenerativo	Calcificación	2	9%	21		1	1	91%			
Riñon	23	Necrotico	Necrotico	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	23				100%			
Riñon	23	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	23				100%			

12.2 Anexo 4. SCORE CETÁCEOS

Organos	Numero organos	Trastornos	Hallazgos	Nº de casos/hallazgos	% Hallazgos por organo	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2	SCORE 3	Score 0 (%)	Score 1 (%)	Score 2 (%)	Score 3 (%)
Bazo	2	Circulatorio	Congestion	1	50%	1		1		50%	0%	100%	0%
Bazo	2	Circulatorio	Hiperemia	1	50%	1		1		50%	0%	100%	0%
Bazo	2	Circulatorio	Hemorragia	1	50%	1		1		50%	0%	100%	0%
Bazo	2	Inflamatorio	Inflamatorios	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Degenerativo	Hemosiderosis	1	50%	1	1			50%	100%	0%	0%
Bazo	2	Degenerativo	Calcificación	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Necrotico	Necroticos	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	2				100%			
Bazo	2	Del crecimiento	Hiperplasia pulpa blanca	1	50%	1			1	50%	0%	0%	100%
Bazo	2	Del crecimiento	Hiperplasia pulpa roja	0	0%	2				100%			
Corazón	6	Circulatorio	Congestion	2	33%	4	1		1	67%	50%	0%	50%
Corazón	6	Circulatorio	Hiperemia	1	17%	5	1			83%	100%	0%	0%
Corazón	6	Circulatorio	Hemorragia	2	33%	4		1	1	67%	0%	50%	50%
Corazón	6	Circulatorio	Edema	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Circulatorio	Anemia	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Inflamatorio	Inflamatorios	1	17%	5	1			83%	100%	0%	0%
Corazón	6	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Degenerativo	Deg. Hialina	3	50%	3	1	2		50%	33%	67%	0%
Corazón	6	Degenerativo	Calcificación	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Necrotico	Necroticos	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	6				100%			

Corazón	6	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	6				100%			
Corazón	6	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	6				100%			
Encefalo	1	Circulatorio	Congestion	1	100%			1		0%	0%	100%	0%
Encefalo	1	Circulatorio	Hiperemia	1	100%				1	0%	0%	0%	100%
Encefalo	1	Circulatorio	Hemorragia	1	100%				1	0%	0%	100%	0%
Encefalo	1	Circulatorio	Edema	1	100%				1	0%	0%	100%	0%
Encefalo	1	Inflamatorio	Inflamatorios	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Degenerativo	Deg. de la Fibra Nerviosa	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Necrotico	Necroticos	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	1				100%			
Encefalo	1	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Circulatorio	Congestion	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Circulatorio	Hiperemia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Circulatorio	Anemia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Inflamatorio	Inflamatorios	1	100%			1		0%	0%	100%	0%
Estomago	1	Degenerativo	Deg. Mucosa	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Necrotico	Necroticos	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	1				100%			
Estomago	1	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	1				100%			
Higado	6	Circulatorio	Congestion	3	50%		3	1	1	50%	33%	33%	33%
Higado	6	Circulatorio	Hiperemia	1	17%		5		1	83%	0%	100%	0%
Higado	6	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	6				100%			
Higado	6	Circulatorio	Anemia	1	17%	5			1	83%	0%	100%	0%
Higado	6	Inflamatorio	Inflamatorio	2	33%	4	2			67%	100%	0%	0%
Higado	6	Degenerativo	Tumefacción turbia	3	50%	3	1		2	50%	33%	0%	67%
Higado	6	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	6				100%			
Higado	6	Degenerativo	Deg. Grasa	3	50%	3			3	50%	0%	0%	100%
Higado	6	Degenerativo	Deg. Hialina	0	0%	6				100%			
Higado	6	Degenerativo	Calcificación	1	17%	5	1			83%	100%	0%	0%

Higado	6	Degenerativo	Hemosiderosis	1	17%	5		1		83%	0%	100%	0%
Higado	6	Degenerativo	Ictericia	1	17%	5		1		83%	0%	0%	100%
Higado	6	Necrotico	Necrotico	2	33%	4		1	1	67%	0%	50%	50%
Higado	6	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	6				100%			
Higado	6	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	6				100%			
Higado	6	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	6				100%			
Higado	6	Del crecimiento	Hiperplasia de conductos biliares	1	17%	5			1	83%	0%	0%	100%
Intestinos	4	Circulatorio	Congestion	1	25%	3	1			75%	100%	0%	0%
Intestinos	4	Circulatorio	Hiperemia	2	50%	2	2			50%	100%	0%	0%
Intestinos	4	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	4				100%			
Intestinos	4	Circulatorio	Anemia	0	0%	4				100%			
Intestinos	4	Inflamatorio	Inflamatorios	1	25%	3		1		75%	0%	100%	0%
Intestinos	4	Degenerativo	Deg. Mucosa	1	25%	3			1	75%	0%	0%	100%
Intestinos	4	Necrotico	Necroticos	0	0%	4				100%			
Intestinos	4	Del crecimiento	Atrofia	1	25%	3	1			75%	100%	0%	0%
Intestinos	4	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	4				100%			
Intestinos	4	Del crecimiento	Hiperplasia	1	25%	3	1			75%	100%	0%	0%
Musculo	4	Circulatorio	Congestion	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Circulatorio	Hiperemia	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Circulatorio	Hemorragia	1	25%	3	1			75%	100%	0%	0%
Musculo	4	Circulatorio	Anemia	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Inflamatorio	Inflamatorios	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Degenerativo	Tumefacción turbia	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Degenerativo	Deg. Hialina	1	25%	3		1		75%	0%	100%	0%
Musculo	4	Necrotico	Necroticos	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	4				100%			
Musculo	4	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	4				100%			
Nodulos	1	Circulatorio	Congestion	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Circulatorio	Hiperemia	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Circulatorio	Hemorragia	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Circulatorio	Edema	0	0%	1				100%			

Nodulos	1	Inflamatorio	Inflamatorios	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Degenerativo	Hemosiderosis	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Degenerativo	Ictericia	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Necrotico	Necroticos	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	1				100%			
Nodulos	1	Del crecimiento	Hiperplasia	1	100%			1		0%	0%	100%	0%
Pulmón	6	Circulatorio	Congestion	4	67%	2	1	1		33%	25%	25%	50%
Pulmón	6	Circulatorio	Hiperemia	3	50%	3			3	50%	0%	0%	100%
Pulmón	6	Circulatorio	Hemorragia	1	17%	5			1	83%	0%	0%	100%
Pulmón	6	Circulatorio	Edema	2	33%	4			2	67%	0%	0%	100%
Pulmón	6	Circulatorio	Anemia	0	0%	6				100%			
Pulmón	6	Inflamatorio	Inflamatorio	4	67%	2			4	33%	0%	0%	100%
Pulmón	6	Necrotico	Necrotico	0	0%	6				100%			
Pulmón	6	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	6				100%			
Pulmón	6	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	6				100%			
Pulmón	6	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Circulatorio	Congestion	1	17%	5			1	83%	0%	0%	100%
Riñón	6	Circulatorio	Hiperemia	2	33%	4	1	1		67%	50%	50%	0%
Riñón	6	Circulatorio	Hemorragia	2	33%	4			2	67%	0%	0%	100%
Riñón	6	Circulatorio	Anemia	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Inflamatorio	Inflamatorio	2	33%	4	1	1		67%	50%	50%	0%
Riñón	6	Degenerativo	Tumefacción turbia	2	33%	4			2	67%	0%	100%	0%
Riñón	6	Degenerativo	Deg. Hidropica	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Degenerativo	Deg. Grasa	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Degenerativo	Deg. Hialina	1	17%	5		1		83%	0%	100%	0%
Riñón	6	Degenerativo	Calcificación	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Necrotico	Necrotico	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Del crecimiento	Atrofia	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Del crecimiento	Hipertrofia	0	0%	6				100%			
Riñón	6	Del crecimiento	Hiperplasia	0	0%	6				100%			