

Recomendaciones para la Toma y Envío de Muestras para Exámenes Bacteriológicos de Enfermedades Frecuentes en Bovinos de Nuestro Medio

Ortiz M. M.¹, Acosta A. M.², Acosta G. R.³, Sousa Z. J.⁴

Por el presente y como profesionales relacionados directamente a las actividades diagnósticas de laboratorio y en base a la recepción cotidiana de muestras, hemos creído por conveniente trabajar este documento, para evitar aún algunas deficiencias en el envío de especímenes con fines diagnósticos, en esta ocasión solamente estamos considerando las enfermedades más frecuentes en bovinos causadas por microorganismos en nuestro medio, sobre todo ¿cómo y qué material remitir principalmente?, no sólo por su importancia económica, sino también prevenirlas y controlarlas desde el punto de vista de sanidad animal y de salud pública, permitiendo así el suministro de un producto de calidad garantizada. Dado que la relación salud y enfermedad son ideas relativas y convencionales, ya que se pasa de una a la otra por graduaciones insensibles, estos dos términos no conllevan necesariamente a estados opuestos.

Un laboratorio de diagnóstico es una entidad de servicio, con ambiente físico bien equipado, con personal profesional calificado que presta apoyo y ayuda técnica a usuarios como ganaderos, avicultores, alpaqueros, porcicultores, criadores de caballos, ovinos, caprinos, caninos, felinos, mascotas, animales de laboratorio y exóticos.

Bajo estas premisas las muestras de espécimen(es) deben ser tomadas con sumo cuidado considerando la asepsia y la técnica a emplearse, luego rotular bien con lapicero indeleble e incluir información adicional:

Nombre, dirección y teléfono del Médico Veterinario; nombre, dirección y teléfono del dueño; especie animal, edad, sexo y raza; número de animales en el hato; número de animales afectados; tiempo de evolución de la enfermedad; signos clínicos que presentó el paciente; datos sobre la morbilidad y mortalidad en el hato; vacunaciones y tratamientos; hallazgos en otras necropsias del mismo brote; casos similares en la zona; diagnóstico presuntivo; fecha y hora de la muerte; material enviado al laboratorio, fijador o preservativo usado; especificaciones claras relativas al tipo de análisis que se requiere.

¹ Responsable del Laboratorio de Bacteriología - Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal - Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA - Ministerio de Agricultura. Perú

² Consultor - Ex Profesor Principal a dedicación exclusiva de Microbiología y Serología de la Facultad de Medicina Veterinaria - Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima, Perú.

³ Jefe de Oficina de Centros de Diagnóstico y Producción del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA - Ministerio de Agricultura. Perú.

⁴ Médico Veterinario, Consultor en Sanidad Animal.



La(s) muestra(s) a tomarse deben ser previamente seleccionada, teniendo en cuenta la problemática a investigarse así como su repercusión y relación en el área y medio ambiente comprometido, desde luego referidas a la colectividad más sensible y a su probable compromiso de afectación, en consecuencia según el caso, el material a remitirse puede ser: animal(es) clínicamente enfermo(s), animal(es) recientemente muerto(s), órganos y/o vísceras, secreciones y torundas (hisopillos), fluidos, raspados, alimentos, productos biológicos, etc.

Al desarrollar un programa de salud para el hato se reducen las pérdidas ya que la enfermedad es un cambio anormal en lo estructural y/o funcional de los tejidos del cuerpo, evitarla es una preocupación constante; entendiéndose en forma no específica y por lógica consecuente la

conservación y preservación de la salud en los animales redunda indiscutiblemente en bien de la salud humana, por lo tanto es diferente ya que los animales son útiles como herramienta de trabajo o productores de alimentos y sus derivados. Es decir, es importante elevar al máximo el rendimiento animal, si el desgaste de los mismos es prematuro es reemplazado inmediatamente por otro; la longevidad no es tomada en cuenta. La exigencia dominante en la explotación pecuaria es la protección de los animales contra enfermedades infecto-contagiosas.

El uso de refrigerantes colocados en cajas de tecnoport es un buen procedimiento de frío para conservar la muestra por más tiempo; también se puede emplear el suero fisiológico glicerinado o glicerina tamponada medios como: Carry Blair, Stuart, Amies y otros. No deben enviarse muestras de cadáveres que tengan más de 10 horas de muertos por ser inapropiados para la investigación de microorganismos.

Para evitar las contaminaciones durante las necropsias, las muestras para investigaciones microbiológicas se deben tomar antes que las histopatológicas y otras. En todos los casos debe usarse material estéril, y obtenerse tan libre de contaminantes como sea posible, las mismas que se observan en las intervenciones quirúrgicas.

La contaminación es más activa en la superficie de los órganos sobre todo si se trata de una superficie de sección en tanto que las cápsulas fibrosas ofrecen una cierta resistencia al crecimiento de las bacterias. Por ello, si es posible se enviarán órganos completos; los músculos deben tomarse respetando su fascia.



OBTENCIÓN DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA

Es conveniente resaltar y enfatizar que, en cualquier situación, la mejor muestra proviene de la necropsia de un animal enfermo sacrificado en el momento. Se debe recordar que, en el estado agónico ocurre invasión de bacterias intestinales las que se difunden en los tejidos y por ende el diagnóstico



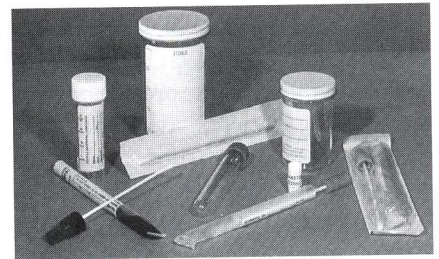
bacteriológico se puede complicar, ya que algunos de dichos organismos son patógenos potenciales.

Las muestras de especímenes necesitan ser apropiadas y recibir un tratamiento cuidadoso que permita dar un resultado óptimo, válido y rápido, evitándose así, pérdida de tiempo, trabajo y expectativas inconvenientes entre el propietario, el veterinario clínico así como con el laboratorista mismo.

ENVASES E INSTRUMENTAL

Las muestras deben ser colocadas en frascos limpios y estériles, preferentemente de boca ancha con tapa rosca para lograr un buen cierre y facilitar su extracción para el análisis respectivo. Siguiendo siempre las recomendaciones del envío con triple empaque y su correcta identificación, acorde con las Naciones Unidas. El instrumental (pinzas, tijeras y bisturí) y otros implementos que se utiliza para la obtención de especímenes deben estar limpios, bien afilados y secos. Previo a su uso, se sumergen en un recipiente con alcohol y se flamean, logrando así asegurar la asepsia. Se deben descartar los desinfectantes químicos (lugol) porque son muy drásticos. En los muestreos realizados a campo, se debe buscar siempre mantener las mejores condiciones de asepsia.

Antes de hacer la incisión primaria se desinfectará la piel de los alrededores con una solución al 2% de cresol u otro desinfectante. Siempre debe trabajarse frente a un mechero de gas o de alcohol.

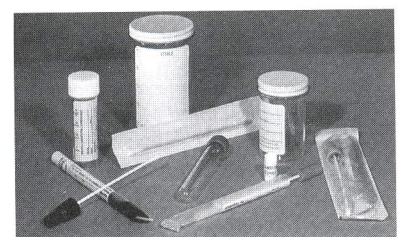


MUESTREO - EXTRACCIÓN Y ENVÍO

Líquidos o contenidos de cavidades se colectan con tubos vacutainer, jeringas y agujas estériles, siendo preferentemente trasvasados a tubos o frascos con tapa de rosca, las secreciones deben extraerse con hisopillo de algodón estéril y sumergidos luego en medios de transporte o en solución preservante esterilizada otorgándole así las condiciones necesarias para mantener la viabilidad del o los agentes microbianos.

En caso de órganos: las piezas deben tener un tamaño aproximado de 5 x 5 cm, si se usa un preservante, deberá guardar una relación de 10:1, trozos de mayor tamaño no son aceptables porque el preservante no actúa bien y la muestra entra rápidamente en putrefacción.

Se recomienda que las muestras de vísceras deban estar en recipientes separados. El intestino se envasa por separado



y con sus extremos ligados manteniendo su contenido intacto. Las muestras de cerebro deben enviarse una parte refrigerada y otra congelada. Los órganos de elección son por lo general: bazo, ganglios, pulmón, hígado, riñón y hueso largo previamente descarnado. En los animales muertos por algunos tipos de septicemia, puede demostrarse la presencia de bacterias en la médula ósea aun cuando el resto del cuerpo se encuentre ya en un avanzado estado de descomposición. A este fin, deben enviarse los huesos sin abrir. Las costillas en la oveja y el húmero en el vacuno son los huesos más adecuados. Cuando exista contaminación se deberá flamear el órgano superficialmente o bien calentar una espátula y apoyarla sobre la superficie a cortar.

No enviar muestras los fines de semana y/o vísperas de fiestas. De lo contrario, se recomienda coordinar con el laboratorio para confirmar el envío y recepción de la misma.

ENFERMEDADES:

REQUERIMIENTOS Y CONSIDERACIONES

Es recomendable una adecuada selección, acondicionamiento, embalaje y el uso apropiado de medios preservantes que conlleven a garantizar un buen proceso en el análisis respectivo en el laboratorio.

Ántrax o Carbuco Bacteridiano o Fiebre Carbonosa

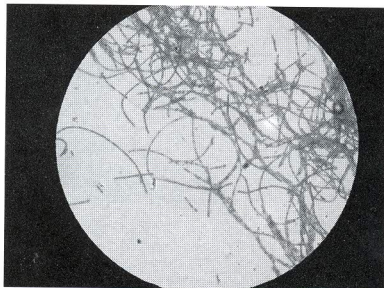
Es imperativo en este evento impedir la depredación incinerando el o los cadáveres enterrándolos en fosas de cierta profundidad esparciendo cal en cantidad suficiente lo más rápido posible porque el *Bacillus anthracis* es una bacteria altamente virulenta y que al descomponerse el cadáver sin apertura del mismo los procesos de autólisis destruyen las formas vegetativas del microorganismo. Así mismo es necesario indicar que muchas veces hay contacto directo con material sospechoso de infección de manera que no está demás consultar con el laboratorio y si fuera preciso con un médico para la aplicación de un tratamiento inmediato. Por lo general enviar:

a) *Bacillus anthracis*

Hisopillo, trozo de tiza, embebido en sangre y/o exudada de las aberturas naturales (boca, nariz y ano) o extracción de sangre con aguja y jeringa de la vena yugular de un animal



Muerte por Fiebre Carbonosa



Bacillus anthracis

recientemente muerto (cuando se sospecha de esta enfermedad no se recomienda hacer necropsia por el riesgo de diseminar la enfermedad) ya que el agente esporula frente al oxígeno del aire siendo ésta su forma de preservarse por periodos muy largos incluso muchos años. En el supuesto que la necropsia se hubiera realizado o faenado el animal se extrae trozo de bazo preferentemente en bovinos.

b) Cultivo de muestras de suelo es otra mejor forma de confirmar la presencia de la bacteria.

Paratuberculosis

Para su diagnóstico y/o confirmación se debe remitir al laboratorio: válvula ileocecal o varios trozos de intestino delgado (en especial yeyuno e íleon) de 5 cm, libres de contenido abiertos longitudinalmente y que tengan lesión macroscópica, incluir también ganglios: mesentéricos y de la región ileocecal, (escoger sobre todo los de mayor tamaño que se observen en la necropsia) en caso de realizar biopsia rectal seccionarlos longitudinalmente remitiendo por lo menos dos muestras de la porción más anterior posible. En lo pertinente al material fecal se remite (50 gramos). Es recomendable conservar la muestra refrigerada o congelada. Igualmente se toman muestras de sangre para la obtención de suero de animales sospechosos no cercanos al parto y mayores de 3 años con síntomas claros diarrea crónica emaciación progresiva.



Mycobacterium avium subespecie
Paratuberculosis



Vacuno con diarrea persistente

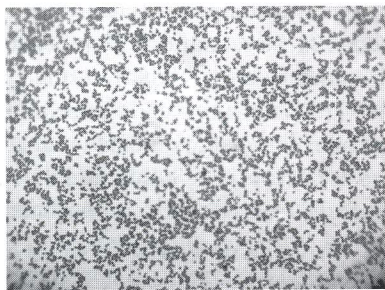


Feto abortado - Brucelosis

Brucelosis

A partir de fetos obtener: líquido de abomaso (contenido estomacal), trozo de bazo, pulmón, hígado y una porción de placenta, evitar el congelado. Se debe acompañar de sueros (muestras pareadas) del establecimiento problema y de las madres abor-

tadas. Previa identificación de los animales, extraer la muestra de sangre y posteriormente conservar el suero. Muestrear como mínimo el 10% del establo. Pueden existir animales que sean seronegativos al momento del aborto, por lo que puede ser necesario repetir el muestreo a las 3 semanas. Se puede extraer secreción de los cuartos mamarios (leche o calostro) y mucus cérvico-vaginal que también es buen material para cultivo en vacas abortadas. En toros se puede recolectar fluido seminal mediante masaje transrectal de las vesículas seminales enviando dicho material refrigerado para cultivo o bien para realizar otras pruebas; también se debe remitir semen y líquidos artríticos o de los higromas. En necropsia se debe tomar: bazo, hígado y ganglios linfáticos, entre ellos tenemos: retromamarios, retrofaríngeos, submaxilares, iliacos. También útero inmediatamente antes o después del parto y las ubres.

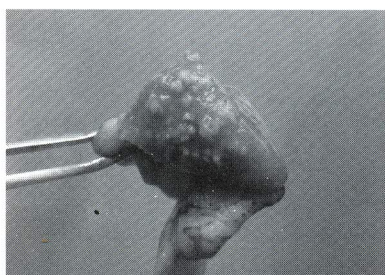


Brucella

Tuberculosis Bovina

Enfermedad que se caracteriza por la formación de nódulos no vasculares (tubérculos) en distintos órganos del cuerpo animal y del hombre. Es una zoonosis que tiene grandes repercusiones tanto económicas como en salud pública cuyo agente etiológico es el *Mycobacterium bovis*, su manifestación está considerada como infección crónica.

El material a enviarse al laboratorio debe seguir un proceso de frío remitiendo órganos con lesiones, linfonódulos de la cabeza, tórax y abdomen. Se pueden enviar hisopos estériles de la parte profunda de la nariz. Se debe inspeccionar cuidadosamente y remitir los siguientes tejidos:



Nódulo tuberculoso

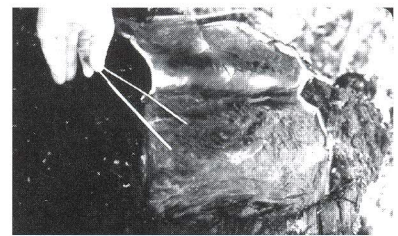


Mycobacterium bovis

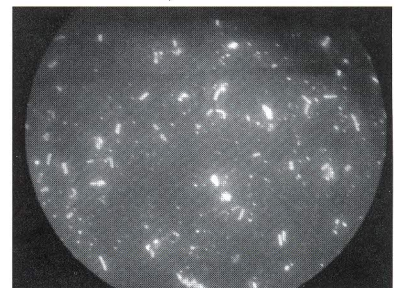
linfonódulos de la cabeza (retrofaríngeo lateral, mandibular, parotídeo, retrofaríngeo mediano); linfonódulos de las vísceras (traqueobronquial, mediastinal, mesentérico, hepático; linfonódulos de la carcasa (poplíteo profundo, subilíaco, mamario, iliaco, cervicales; tejidos diversos (pulmones, hígado, bazo, ovario, oviducto, útero, pleural pariental).

Pierna Negra y/o Carhunco Sintomático

Es una enfermedad infecciosa aguda principalmente afecta animales jóvenes con presencia de hinchazón edematosa en el músculo y tejido subcutáneo (hombro y otros músculos del cuerpo) a la presión hay crepitación; la infección es de curso rápido el animal muere en el curso de 12 a 36 horas.



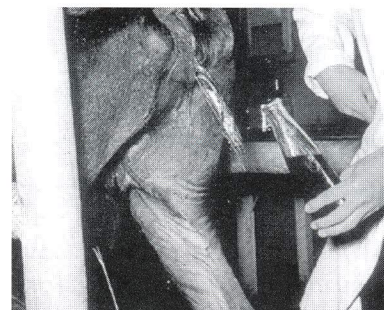
Las muestras para el diagnóstico se debe tomar precauciones procurando que estén el menor tiempo posible en contacto con el oxígeno del aire antes de ser procesadas. Se debe remitir músculos afectados, hígado en glicerina y agua destilada metacarpo o metatarso.



Inmunofluorescencia Clostridium chauvoei

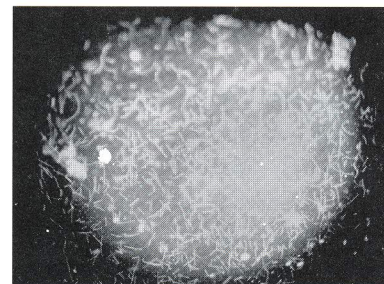
Leptospirosis

La infección por leptospiras se produce por contacto indirecto con el agua, suelo y alimento contaminado con la orina de animales enfermos, así mismo se trasmite de manera directa por contacto con la orina y tejidos de animales infectados a través de:



Toma de muestras de orina para cultivo de Leptospira

abrasiones y heridas de la piel, membranas mucosas y de la conjuntiva; luego invaden la corriente sanguínea donde se multiplican dando origen a la fase de leptospiremia para posteriormente producir una leptospiruria generalmente de duración variable dependiendo de la especie animal infectada. Para efectuar el diagnóstico de Leptospirosis es necesario conocer la dinámica de la infección y de esta manera seleccionar la muestra adecuada ya sea para cultivo o serología. En animales clínicamente enfermos, durante el



Leptospira vista en campo oscuro

leccionar la muestra adecuada ya sea para cultivo o serología. En animales clínicamente enfermos, durante el

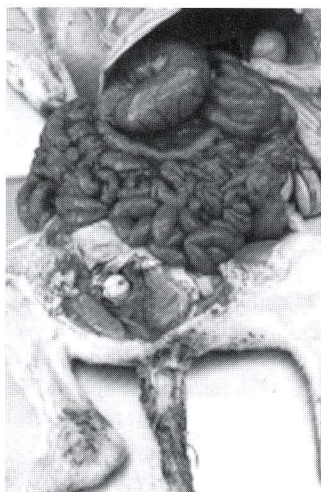
período de leptospiremia, el microorganismo puede ser aislado de sangre, riñón, hígado, cerebro, humor acuoso, médula ósea, ya sea por cultivo directo o por inoculación a animales de laboratorio. En el período de leptospiruria se puede aislar de orina; la orina de las vacas abortadas se obtiene provocando reflejo de la micción o por previa inyección de diuréticos y recolectando la misma en frascos estériles para su posterior siembra y/o inoculación en animales de laboratorio. Se debe enviar refrigerada lo antes posible, ya que debe procesarse dentro de las 6 horas de extraída.

En casos de aborto, donde las probabilidades de aislamiento son escasas por el grado de autólisis que presenta el feto al ser expulsado, se debe intentar recuperar el germen de orina materna.

Sueros: se recomienda el sangrado de animales abortados y sanos del hato y/o establo problema. Se puede incorporar al estudio el suero del feto. Conservar ambos congelados. Se realizarán en los vientres dos extracciones con 15 o 20 días de diferencia entre una muestra y la otra para evaluar si hubiera seroconversión de los títulos porque tiene valor diagnóstico en la etapa aguda de la enfermedad de lo contrario tiene poco valor en la etapa crónica.

Enteritis Hemorrágica y/o Enterotoxemia en Terneros

La enfermedad está caracterizada porque enferman los animales mejor dotados de carne es decir los más gordos con muerte súbita, sin haber presentado síntoma alguno, algunas veces se puede manifestar cólicos y otros dejan de mamar. A la necropsia se observa el cuajar lleno de leche y el intestino delgado hemorrágico, hay un cuadro inflamatorio muy evidente (enteritis hemorrágica). Se remite principalmente en un frasco de boca ancha con bórax, una sección del intestino delgado (10-15 cm) amarrado en sus extremos. Igualmente aparte y en ambiente frío remitir líquido peritoneal y piezas de: riñón, bazo e hígado y frotices de mucosa intestinal.



Vaca con Mastitis

Mastitis

Para la toma de muestras de mastitis subclínica se recomienda realizar antes la higiene, lavando la ubre con detergente,

secar, desinfectar los orificios de los conductos galactóforos utilizando algodón o papel servilleta descartable empapados con alcohol al 70%, esto se hace en sentido contrario a las agujas del reloj permitiendo una mejor asepsia comenzando por el pezón

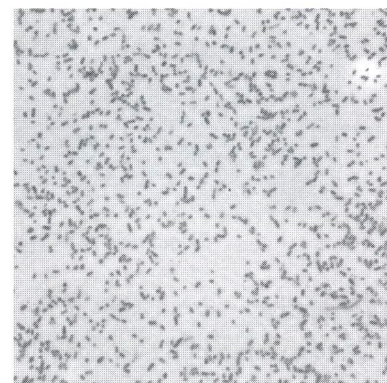
más distante (anterior izquierdo (AI), posterior izquierdo (PI), posterior derecho (PD) y anterior derecho (AD), en sentido contrario a la manecillas del reloj, luego ordeñar descartando los tres primeros chorros de leche partiendo del más próximo, es decir el AD, PD, PI, AI, siguiendo la dirección de las manecillas del reloj. Se recomienda tomar entre 15 y 20 ml de leche de cada cuarto mamario depositados en tubos estériles y refrigerar inmediatamente. Se debe considerar la remisión de muestras seriadas por un período mínimo de tres días seguidos. En caso de mastitis clínica tomar la muestra del o los pezones comprometidos y que no hayan recibido tratamiento alguno.

Pasteurelosis, Fiebre de Embarque y/o Septicemia Hemorrágica

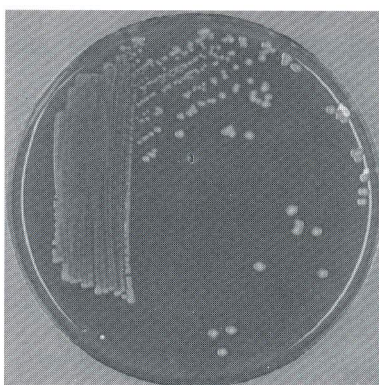
Las muestras a remitirse al hacer la necropsia se hallan limitadas a sangre, médula y órganos respiratorios debido al cuadro de neumonía por la fuerte congestión pulmones seguida de hemorragia y exudado fibrinoso en los alvéolos, incluso a veces se



Género Streptococcus frecuente productor de mastitis



Género Pasteurella



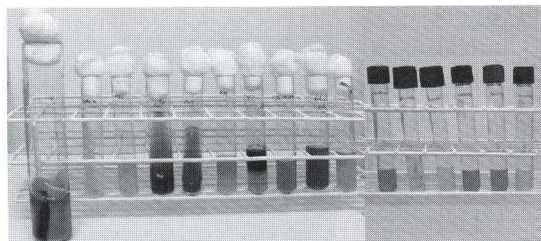
Colonia de Pasteurella

presenta abscesos. Ésta es una enfermedad respiratoria infecciosa del ganado bovino, comparable a la gripe o influenza, pero su causa principal no está aún definida, tampoco ha recibido un nombre satisfactorio hasta ahora; porque no se conoce las causas ni las

características esenciales de la enfermedad, la responsabilidad se le atribuye a la *Pasteurella multocida*; sin embargo, hay investigadores que sospechan que el agente responsable es un virus y que el género *Pasteurella* sólo es un factor predisponente. El síndrome clínico de Septicemia Hemorrágica presenta una fase de manifestación respiratoria y otra terminal de septicemia que conlleva a la muerte. su periodo de incubación es generalmente de 1 a 3 días y el curso puede variar a muerte súbita.

Salmonelosis

Presenta (septicemia): fiebre alta (40,5 °C- 42 °C), debilidad y muerte. Forma entérica: diarrea persistente, severa emaciación, fiebre intermitente, deshidratación, heces amarillentas acuosas - pastosas, a intervalos las heces contienen puntos de sangre, mucosos - fibrosos. Las heces presentan un olor peculiar, decoloración de membranas mucosas visibles, incoordinación y nistagmo. Artritis o síntomas nerviosos en casos crónicos. Para descartar se envía los siguientes órganos: hígado, bazo, intestino, médula hematopoyética.



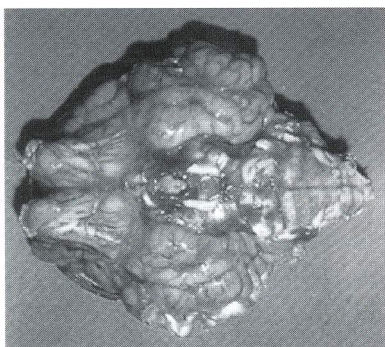
Bioquímica para Salmonella

Listeriosis

Afecta una amplia variedad de especies animales, pero clínicamente es una enfermedad de rumiantes, con casos esporádicos y ocasionales en otras especies.

Las manifestaciones clínicas son: encefalitis, septicemia y aborto especialmente en ovejas, cabras y vacas, se caracteriza por depresión.

Las muestras a remitir son: líquido estomacal, envolturas fetales, hígado, sistema nervioso o de los exudados de las cavidades.



Referencias Bibliográficas

1. Alines de A. Constantino C. Técnicas de necropsia en animales domésticos. 2002.
2. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Comisión Científica Permanente sobre Leptospirosis. Manual de Leptospirosis. Argentina, 1994.
3. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Comisión de Enfermedades Producidas por Bacterias Anaerobias. Metodología Diagnóstica de las Enfermedades Producidas por el Género Clostridium. Argentina, 1999.
4. David L Coffin V.M.D. Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria, 1959.
5. E.T. Baker Diccionario de Primeros auxilios medico Veterinarios, 1950.
6. Francisco A. Uzal, DVM, MSc, PhD. Enfermedades clostridiales de los rumiantes domésticos. Assistant Professor of Clinical Pathology California Animal Health & Food Safety Laboratory System School Veterinary, Medicine University of California. Davis 105 W Central v Ave San Bernardino, CA 92408 USA008.02/05/2005.
7. George P. Devoe, W. A. Ross, W.H.Peters. Cría de Ganado. 1966.
8. José Ángel Pará. Enfermedades abortivas en los animales domésticos. etiología, diagnóstico y diferenciación. Universidad Francisco de Paula Santander. Cúcuta-Colombia.
9. José Morros Sarda, Jesús Sainz Sainz Pardo. Higiene Veterinaria Segunda Edición, 1953.
10. M.G. Fincher D.V.M., M.s. y col. Enfermedades del Ganado Bovino, 1956.
11. National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thailand - Japan International Cooperation Agency - JICA - Standard Diagnostic Manual for livestock disease in Thailand, 2003.
12. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación (FAO) Oficina Regional para América Latina. Manual de técnicas de diagnóstico virológico - Red de cooperación técnica entre laboratorios de investigación y diagnóstico veterinario.
13. Organización Mundial de Sanidad Animal OIE. Manual de Diagnóstico de Enfermedades de los animales Terrestres y de las Aves. quinta Edición, 2004.
14. Paredes H.E. Cubillos G.V. Manual de necropsia de animales domésticos y envío de muestras al laboratorio. Universidad Austral de Chile - Facultad de Ciencias Veterinarias - Instituto de Patología Animal - Valdivia Chile, 1995.
15. Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado Grupo de Sanidad Animal Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. INTA Instituto de Tecnología Agropecuaria - Argentina. Obtención de muestras para el diagnóstico del aborto bovino. 10.- 01. 14/04/2004.
16. Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado Grupo de Sanidad Animal Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. INTA Instituto de Tecnología Agropecuaria - Argentina. Toma de muestras en Mamitis. Telitis.
17. Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado Grupo de Sanidad Animal Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. INTA Instituto de Tecnología Agropecuaria República Argentina. Obtención de muestras para el diagnóstico del aborto bovino.
18. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria - SENASA-Argentina. Remisión y envío de muestras biológicas. 2005.
19. Vademécum Veterinario Séptima edición 1993.

