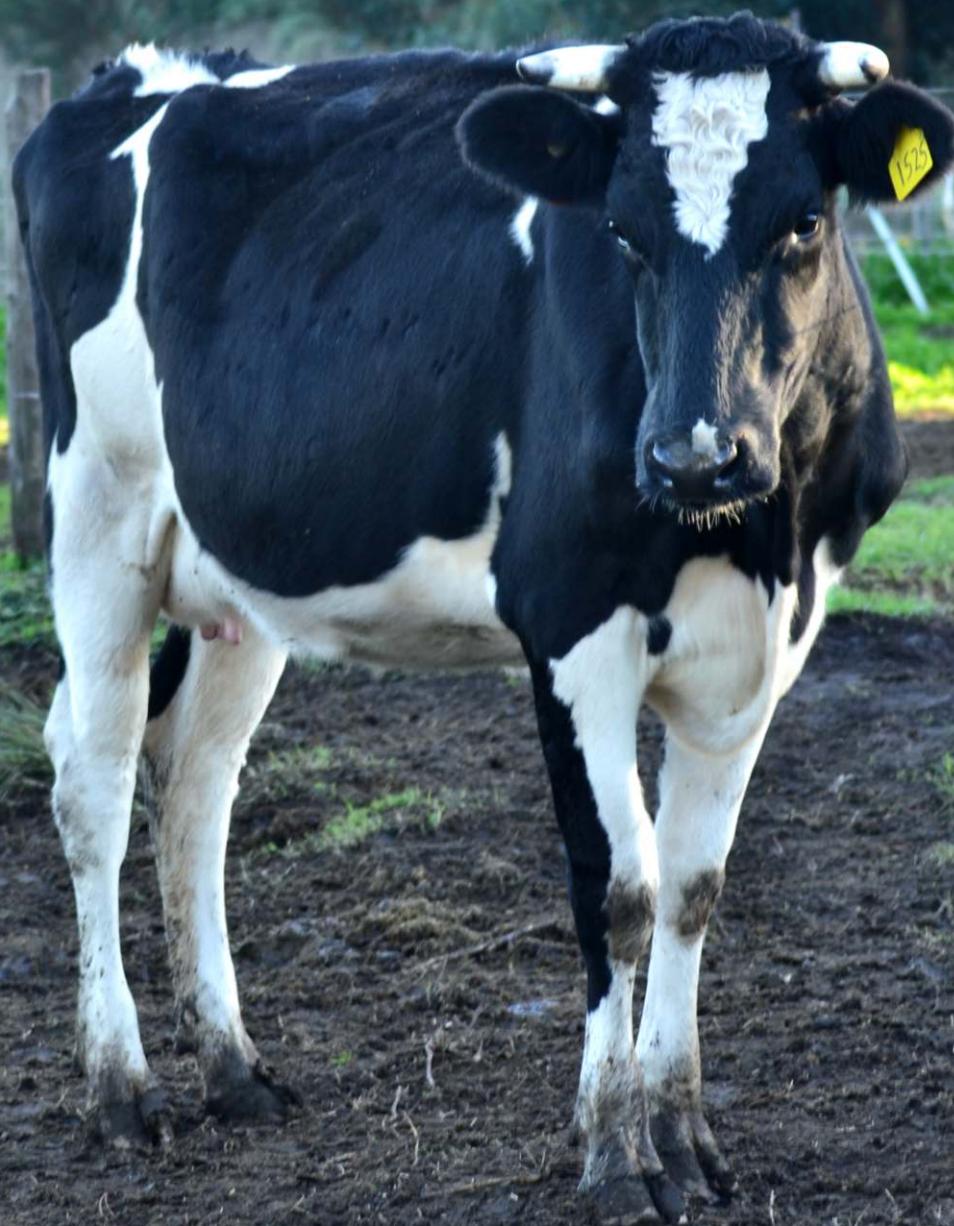


Técnica de necropsia de rumiantes

Recolección de muestras para laboratorios de diagnóstico veterinario

Germán Cantón y Ernesto Odriozola



Técnica de necropsia de rumiantes

Recolección de muestras para laboratorios
de diagnóstico veterinario

*Germán Cantón
Ernesto Odriozola*



Secretaría
de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación

*Grupo de Sanidad Animal
INTA EEA Balcarce
"Ing. Agr. Domingo R. Pasquale"*

2019

636.2 Cantón, Germán José
C16 Técnica de necropsia de rumiantes : recolección de muestras para laboratorios de
 diagnóstico veterinario / Germán Cantón, Ernesto Odriozola. – Buenos Aires : Ediciones
 INTA, 2019.
 47 p. : il.

ISBN 978-987-521-992-2

i. Odriozola, Ernesto Raúl. – ii. título

RUMIANTE – INSPECCION POST MORTEM – DIAGNOSTICO DE LABORATORIO – TECNICAS
ANALITICAS – NECROPSIA

INTA - DD

Diseño: Federico Miri
Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce “Ing. Agr. Domingo R. Pasquale”

*Este libro
cuenta con licencia:*



Contenido

Prólogo	pág. 4
Introducción	pág. 5
Técnica de necropsia	pág. 6
Información anamnésica y antecedentes del caso	pág. 9
Examen clínico previo	pág. 9
Eutanasia	pág. 9
Examen exterior del cadáver	pág. 11
Apertura de cadáveres y examen de los órganos <i>in situ</i>	pág. 12
Descripción anátomo-patológica e Informe de necropsia	pág. 26
Descripción anátomo-patológica	pág. 27
Cambio <i>post mortem</i>	pág. 30
Informe de necropsia	pág. 30
Muestreo de tejidos y otros especímenes para análisis	pág. 33
Recolección de muestras, envío y procesamiento	pág. 35
Laboratorio de Bacteriología	pág. 36
Laboratorio de Virología	pág. 40
Laboratorio de Bioquímica clínica	pág. 42
Laboratorio de Toxicología	pág. 43
Laboratorio de Parasitología	pág. 44
Laboratorio de Patología	pág. 46
Recaudos finales	pág. 47

Prólogo

Si bien la producción de carne bovina a nivel mundial se ha incrementado en las últimas décadas, de acuerdo a las estimaciones de la FAO, esta no ha sido suficiente para cubrir las demandas de una población humana mundial en crecimiento. Si estos pronósticos se cumplen, y teniendo en cuenta la competencia por la superficie destinada a la producción de alimentos, es importante tratar de suplir estas demandas, haciendo más eficientes nuestros sistemas: produciendo más cantidad de kilos de carne por unidad de superficie destinada para tal fin.

Las carnes de origen animal representan una fuente importante de proteína de alta calidad para alimentar a esta población en crecimiento. Además, la actividad ganadera es de relevancia ya que puede realizarse en locaciones donde otros cultivos no pueden establecerse, transformando pastizales naturales y otros subproductos de la industria en alimento de calidad.

En sistemas de producción ganadera, la eficiencia de rodeo está principalmente determinada por factores como tasas reproductivas, tasa de sobrevivencia de los terneros producidos, pesos de destete y de faena, logrados en un menor tiempo posible. La rentabilidad de las explotaciones ganaderas y su sustentabilidad se han basado en una eficiente performance productiva. Por lo tanto, establecer la etiología de cualquier problema sanitario que ocurra en estos sistemas, es imprescindible, para tratar de establecer medidas de control y prevención de estas patologías, con el objetivo de ayudar al productor.

Tradicionalmente, la mayoría de los problemas sanitarios han sido provocados por enfermedades de origen infeccioso. Pero hoy en día, con la intensificación de nuestros sistemas, incorporación de nuevas dietas, subproductos, nuevas drogas, entre otras, ha llevado a que muchas veces, las tasas de morbilidad y mortalidad se hayan incrementado, y muchas veces, son producto de problemas de origen no infeccioso.

Por esa razón, la necropsia es una importante herramienta para tratar de confirmar o descartar la información clínica recabada (*diagnóstico ante mortem*) y para determinar el origen de los problemas sanitarios en rodeos o majadas, y además, detectar epizootias y enfermedades zoonóticas.

El objetivo de este trabajo es proveer de una metodología que contempla diferentes aspectos, con el fin de mejorar los conocimientos de diagnóstico patológico, técnica de necropsia y protocolos de muestreo necesarios para tratar de arribar a un diagnóstico etiológico de los diferentes problemas sanitarios que puedan ocurrir en sistemas de producción ganadera de Argentina.

Introducción

*Germán Cantón
Ernesto Odriozola*

Las enfermedades emergentes y exóticas constituyen una amenaza a la salud animal y pública y un riesgo para la seguridad alimentaria. Además, las enfermedades endémicas en nuestros rodeos y majadas, provocan severas pérdidas económicas, siempre y cuando no sean diagnosticadas a tiempo, e instaurados programas de control.

El diagnóstico rápido de estas enfermedades, la difusión de la información y la capacitación de recursos humanos permiten mantener un sistema de monitoreo continuo de las enfermedades regionales, detectar tempranamente enfermedades emergentes y exóticas, y aplicar las medidas correctivas que correspondan.

La actividad de diagnóstico veterinario, sobre todo en animales de producción, incluye en primera instancia la recopilación de información anamnésica que incluya la toma de datos epidemiológicos, realizar una adecuada revisión clínica de los animales afectados, y por último, si fuera necesario, realizar necropsias para evaluar los hallazgos *post mortem* de animales afectados y tomar las muestras necesarias para remitirlas al laboratorio y poder obtener un diagnóstico final de la problemática sanitaria.

La realización sistemática de una necropsia, el reconocimiento e interpretación de lesiones y la adecuada recolección de muestras para procesarlas en laboratorios especializados se constituyen en el pilar del diagnóstico de una enfermedad.

En esta guía se presenta la experiencia en diagnóstico de enfermedades, con énfasis en necropsia y recolección de muestras para laboratorios, desarrollada por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del Grupo de Sanidad Animal de la EEA Balcarce. Se realizan actividades de diagnóstico de enfermedades desde el año 1969, habiendo procesado durante este periodo cerca de 40000 protocolos (o casos), en distintas especies animales, pero por sobre todo rumiantes de producción, remitidos de casi todas las provincias del país, pero principalmente de Buenos Aires.

Para ello, contamos con capacidad de rápida movilidad, patólogos especializados en diagnóstico y el apoyo de distintos profesionales y técnicos de laboratorio especializados en Bacteriología, Bioquímica Clínica, Epidemiología, Parasitología, Patología, Virología y Toxicología.

Técnica de necropsia

*Germán Cantón
Ernesto Odriozola*



Diversos problemas sanitarios pueden presentarse en nuestros sistemas de producción; por lo tanto es fundamental que el ejercicio diagnóstico sea prolijo y metódico, con el objetivo de tratar de arribar a un diagnóstico etiológico final, y de esta manera, poder establecer medidas de control para evitarlos en el futuro.

Este ejercicio debería iniciarse con una correcta recolección de información anamnéstica, que permita establecer en primera instancia, posibles factores que expliquen la presentación de la enfermedad. Esta información, en conjunto con la revisión clínica de los individuos afectados, permitirá orientarnos al iniciar la técnica de necropsia.

La necropsia es una herramienta diagnóstica fundamental que facilita la identificación de entidades patológicas en los individuos investigados para poder establecer medidas de control de muchas enfermedades. Si se realiza con habilidad, prolijidad, intentando observar todos los tejidos y se interpretan correctamente los hallazgos *post mortem*, brinda una oportunidad única con un alto grado de eficiencia. Requiere del conocimiento general y especial de la patología de tejidos, órganos y sistemas. Demanda también el conocimiento de la normalidad de los tejidos y la identificación de los cambios *post mortem* que eventualmente se produzcan. El hecho de contar con un protocolo de necropsia metódico, le permitirá al veterinario realizar una necropsia completa, rápida y sistemática.

Se deberá siempre tener en cuenta el manipuleo del material y del cadáver en una necropsia, ya que puede ser riesgoso para la salud propia o de quienes nos rodeen, existiendo la posibilidad de adquirir una enfermedad zoonótica. Por lo tanto, las medidas de seguridad durante una necropsia, nunca deben ser subestimadas.

En la mayoría de los casos se puede arribar a un diagnóstico certero cuando se realiza la necropsia sobre un animal clínicamente afectado que fue eutanasiado o un animal que ha muerto recientemente. El éxito en arribar a un diagnóstico correcto, se ve dificultado cuando el tiempo avanza y la autólisis deteriora los tejidos.

En ese sentido, se deben tener en cuenta algunas premisas al momento de realizar una necropsia:

1. Minimizar el proceso de autólisis manteniendo el cadáver en lugares frescos, con sombra, especialmente durante las épocas de mayor temperatura ambiente.
2. Antes de comenzar una necropsia es indispensable estar equipado con la vestimenta apropiada, especialmente destinada a ese fin, así como material de protección: guantes descartables, barbijos, etc. sobre todo cuando se sospeche de la presencia de alguna enfermedad zoonótica.

3. Disponer del instrumental adecuado, cuchillos afilados, costótomo, sierra o serrucho, hacha, chaira, piedra de afilar. Para tomar muestras de tejidos utilizar bisturí, pinzas, tijeras, etc. Se deberá disponer también de portaobjetos para realizar frotis o improntas de tejidos, jeringas, agujas, hisopos. Se necesitarán frascos con formol bufferado al 10% y recipientes estériles o con glicerina al 50% para envío de materiales al laboratorio de microbiología; frasco con alcohol y garrafa para esterilizar el instrumental para el muestreo microbiológico; cintas para medir pH; hilo y bolsas de plástico; material para identificar muestras.
4. Llevar elementos para higiene posterior, desinfectantes, cepillos, jabón, toallas, etc.
5. Al realizar la necropsia, proceder ordenadamente examinando los diferentes órganos y tejidos sistemáticamente.
6. Si observamos una lesión, tomar la muestra en el límite entre el tejido sano y el afectado, sobre todo cuando se intentara un aislamiento bacteriano.
7. Efectuar cortes netos y con seguridad evitando accidentes personales.
8. Colocar las muestras en recipientes apropiados para cada fin y trasladar las muestras debidamente acondicionadas evitando riesgos de infección a terceros y al personal del laboratorio.
9. Recordar que una necropsia es una actividad fundamental para establecer el diagnóstico de un problema sanitario, pero debe ser necesariamente complementado con los antecedentes del caso.

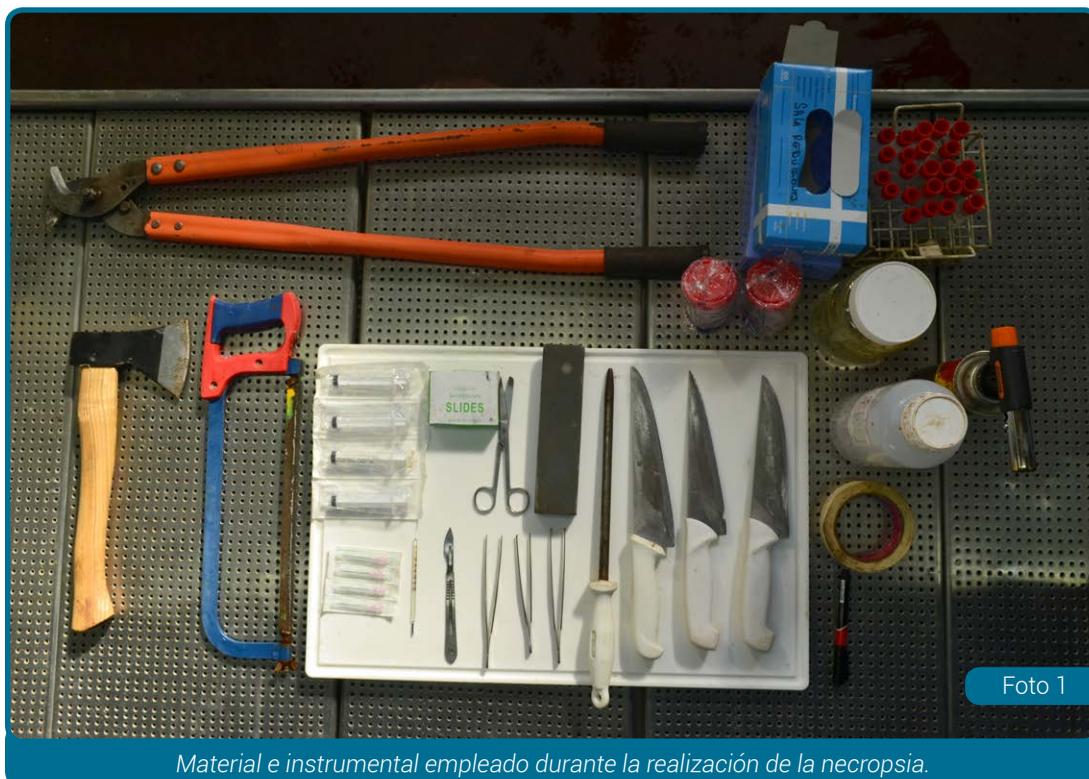


Foto 1

Material e instrumental empleado durante la realización de la necropsia.

Información anamnésica y antecedentes del caso

Antes de comenzar una necropsia se deben registrar los antecedentes del establecimiento de donde proviene el caso, es decir, la anamnesis del problema. Esta debería incluir las características productivas del establecimiento, desde ubicación geográfica y superficie ganadera, tipo de explotación ganadera y qué superficie se dedica a cada actividad. Además, debería incluirse el tipo de suelo: si es bajo, tendido, o alto; y la proporción de cada uno de ellos, si es mixto. Debería incluirse la población de animales existentes, por categoría, razas, sexo y estado fisiológico.

También es útil conocer la alimentación de los mismos, qué especies forrajeras se encuentran presentes en las pasturas (naturales o implantadas) o verdeos, además de estado y disponibilidad de las mismas, así como la carga animal. Determinar si se incluyen suplementos alimenticios o aditivos a la dieta, y las características del agua de bebida.

Es importante recabar información respecto al manejo de los animales inmediatamente antes del problema (tiempo de encierro, ayuno, agua, agitación) y el plan sanitario de los animales. Incluir información reproductiva (época de servicio, porcentajes de preñez, parición, destetes, entre otros). También, describir respuesta a tratamientos previos a su muerte.

Se debería incluir tasas epidemiológicas (cantidad de animales afectados y/o muertos, sobre la población expuesta) y la historia clínica detenidamente (pensando sobre todo en el curso de la enfermedad, duración de los signos y sistemas involucrados).

De esta manera podremos, a medida que avanzamos con la necropsia, poder interpretar los primeros hallazgos patológicos, o priorizar algunos tejidos o toma de diversas muestras para arribar a un diagnóstico apropiado.

Examen clínico previo

Si bien el objetivo de este material no es ahondar en detalles sobre la revisión clínica de los animales, sino afianzar detalles sobre las técnicas de diagnóstico *post mortem*, es necesario realizar una correcta toma de información clínica de animales afectados (si los hubiera) en los que se debiera incluir: registro de la temperatura rectal, frecuencia cardíaca y respiratoria, reflejos, etc. antes de la eutanasia de los animales. Además, es una buena oportunidad para tomar muestras de sangre, materia fecal, etc. de estos animales.

Eutanasia

En muchas oportunidades habrá que realizar la eutanasia de los animales afectados para luego realizar estudios *post mortem*. Si bien tradicionalmente nunca se han tomado medidas para realizar la eutanasia teniendo en cuenta aspectos relacionados con el bienestar animal, hay que considerar que éste es un procedimiento para finalizar con la vida de un animal por lo tanto debería realizarse de forma humanitaria, no dolorosa ni estresante. En la misma, siempre deberá intervenir un veterinario con experiencia o personal entrenado apropiadamente y capacitado.

Durante la eutanasia hay que tener en cuenta la seguridad del operador, por lo que siempre se debe utilizar material apropiado para tal fin. Inicialmente en cualquier técnica de eutanasia se debe lograr la inconciencia del animal y su muerte rápida, sin provocar estrés o dolor en el animal. Algunos métodos pueden parecer más idóneos

para el público en general, pero no necesariamente son más apropiados. El animal debe estar inmovilizado previo a realizar la eutanasia y el método debe ser fácilmente aplicable, rápido, de bajo costo, confiable e irreversible. Además, el método no debería comprometer la recolección posterior de especímenes para diagnóstico o técnicas de laboratorio a emplear sobre los mismos.

En ese sentido, y de acuerdo a las regulaciones existentes en diferentes organismos, se sugiere la implementación de una metodología que en primera instancia logre la inmovilización e inconciencia del animal y por último su muerte. Si bien existen varios mecanismos mencionados en la bibliografía, el más sencillo es lograr la inconciencia mediante un mecanismo físico, ya sea utilizando un noqueador portátil (con bala cautiva penetrante) o directamente armas de fuego (siempre utilizadas por personal capacitado para tal fin). El lugar de impacto debería ser en la intersección de 2 líneas imaginarias, desde el ángulo externo de los ojos a la base del cuerno (o proceso cornual si es un animal mocho) opuesto (Foto 2). Estos métodos provocan la destrucción tisular, por lo que el encéfalo puede no quedar en condiciones apropiadas para su futura examinación. Inmediatamente luego de aplicado, el animal debe colapsar, mostrando rigidez y la respiración debería cesar, logrando la inconciencia del animal, sin embargo, el animal puede llegar a manifestar algún grado de movimientos involuntarios minutos después de este procedimiento.

En este momento, es imprescindible la aplicación de una metodología secundaria que provoque su muerte. Quizás la más sencilla y barata, sea el desangrado o exanguinación. Este método es solo recomendado como método accesorio luego de lograda la inconciencia del animal y no como método primario de eutanasia. En el bovino, se recomienda lacerar las venas yugulares y arterias carótidas (ubicación A en la Foto 3) utilizando un cuchillo largo y filoso, insertándolo detrás de la mandíbula sobre dorsal de los grandes vasos e incidiendo piel y músculos, evitando escindir tráquea y esófago. Otra alternativa, muchas veces más dificultosa para realizar por



Foto 2

Lugar de impacto recomendado para lograr la inconciencia del animal durante la eutanasia.



Foto 3

Lugares de incisión para lograr la exanguinación del animal al que se le realiza la eutanasia.

personal no entrenado, es incidir en la entrada del pecho (ubicación B en la Foto 3), por encima del manubrio del esternón, tratando de orientar la incisión hacia el corazón. En este sentido, se inciden la salida de los grandes vasos (aorta y vena pulmonar) o directamente corazón.

Estas metodologías antes mencionadas son las más económicas. Si bien existen alternativas químicas (barbitúricos, soluciones sobresaturadas, entre otras) para lograr la eutanasia, estas suelen ser costosas, aunque quizás de aplicación más sencilla, sobre todo para personal que no está habituado a las técnicas antes propuestas.

Luego de la aplicación de cualquiera de estas alternativas para lograr la eutanasia, se debe confirmar la muerte del animal, teniendo siempre en cuenta la seguridad del operador, ya que los animales pueden llegar a manifestar movimientos involuntarios. Se debe corroborar la ausencia de pulso sanguíneo o movimientos cardíacos, respiración, reflejo corneal o palpebral, entre otros.

Examen exterior del cadáver

Revisar detenidamente el exterior del animal. Determinar el estado de desarrollo y nutrición. Observar especialmente las aberturas naturales: ano, nariz, boca, genitales externos, los ojos, las extremidades. Palpar las articulaciones, tejido subcutáneo, masas musculares y ganglios superficiales. Revisar por la posible presencia de lesiones en piel y la presencia de ectoparásitos.

En este momento se podrían llegar a recolectar algunas muestras que podrían ser de valor diagnóstico. Por tal razón, se recomienda hacerlo y no dejarlo para más adelante en el proceso de la necropsia, porque pueden llegar a ser olvidadas. Un ejemplo, podría ser la recolección de humor vítreo para el diagnóstico de hipomagnesemia.

Apertura de cadáveres y examen de los órganos *in situ*

A continuación se describirá la técnica de necropsia que tradicionalmente se ha seguido por los patólogos del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado, recordando que no es la única metodología, y que cada uno puede llegar a aplicar modificaciones a la misma.

----- Incisiones primarias -----

- 1** Ubicar al animal en decúbito lateral izquierdo: cabeza hacia la derecha del operador y extremidades hacia el operador.
- 2** Levantar la extremidad anterior derecha, incidir la piel a lo largo de la axila y luego los músculos subescapulares para desarticular el miembro, hacia dorsal (Foto 4). Inspeccionar el linfonódulo prescapular derecho.
- 3** Levantar la extremidad posterior derecha, incidir la piel de la ingle y realizar un corte en las masas musculares para poder abordar y desarticular la articulación coxofemoral (acetábulo). De esta manera se logrará levantar por completo el miembro hacia dorsal (Foto 4). En este momento se pueden incidir, de manera conjunta, los músculos semitendinoso, semimembranoso y bíceps femoral, apoyando el canto del cuchillo sobre la mitad del hueso fémur e incidiendo perpendicular hacia caudal. De esa manera se incidirá el paquete de tejido adiposo, nervioso que permitirá acceder al linfonódulo poplíteo derecho, para poder inspeccionarlo. Con las maniobras realizadas descriptas en el punto 3 y 4, se podrá liberar el área para poder tener acceso a las cavidades abdominal y torácica.



Foto 4

4 En este momento se puede proceder a “cuerear” el flanco del animal: se sugiere incidir por línea media hasta el periné, por arriba del pene o la ubre, y levantar la piel hacia arriba, hasta la línea dorsal sobre las cavidades abdominal y torácica (Foto 5).



Foto 5

5 En el cuello, incidir la piel en el espacio intermandibular (quijada) hacia caudal, siguiendo la gotera yugular hasta la incisión realizada al desarticular el miembro anterior (Foto 6). En este momento se pueden observar las estructuras expuestas, glándulas salivares y linfonódulos superficiales de la región.



Foto 6

----- Incisiones secundarias -----

1 Para abordar cavidad abdominal se deben incidir las capas musculares de la pared abdominal siguiendo la línea de la última costilla (Foto 8) y luego a lo largo de los procesos lumbares transversos hasta la pelvis incidiendo el área inguinal. De esta manera, se bajan las capas musculares, y se aborda la cavidad abdominal para permitir la examinación de sus órganos *in situ* (Foto 7). Se recomienda no manipular los diferentes órganos, notar esencialmente la relación entre ellos y observar cualquier anomalía en la superficie peritoneal o contenido de la cavidad. El omento que cubre los intestinos podrá ser luego cortado para poder acceder a órganos más profundos o manipularlos más fácilmente. Hay que tener precaución al incidir inicialmente la cavidad abdominal, ya que el tracto gastrointestinal puede estar distendido por la presencia de gas, y suele ser frecuente la incisión de algún órgano que provoque la salida brusca de gas o contenido. Por tal razón, y dependiendo de los objetivos de la necropsia, se puede incidir voluntariamente para distender el contenido, sobre todo incidiendo el rumen o abomaso y de esta manera permitir la salida de gas. Si no se desea contaminar la cavidad abdominal para su posterior muestreo, hay que hacerlo de manera más cuidadosa, utilizando generalmente el cuchillo con el filo hacia adentro, y evitando incidir los órganos con la punta del mismo.

En la sección pertinente se mencionará la metodología recomendada para el muestreo de los diferentes especímenes/tejidos dentro de la cavidad abdominal

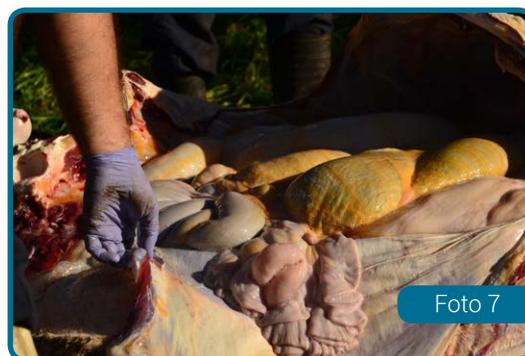
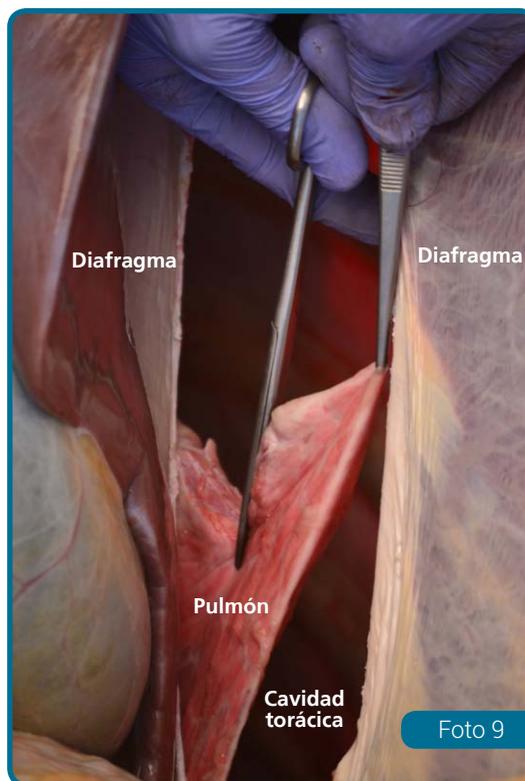


Foto 7



Foto 8

2 Dependiendo de los objetivos de la necropsia, si se pretendiera acceder a cavidad torácica para extraer tejidos para intentar cultivos bacterianos o virales, se recomienda abordar cavidad incidiendo el músculo diafragma (Foto 9), y de esta manera se podrá tener un primer panorama de los tejidos de esta cavidad. Luego, para abordar completamente la cavidad, se deben cortar las costillas. Dependiendo de la edad de los animales, esta tarea puede ser más sencilla sobre todo en los jóvenes, ya que la articulación costo-condral no suele estar tan osificada, por lo que puede ser desarticulada con el cuchillo. En esos casos, se puede desarticular costilla por costilla, y luego incidir los músculos intercostales, para luego quebrar o desarticular la costilla sobre la articulación costo-vertebral. En el caso de animales adultos, es necesario el empleo de costótomo, hacha o sierra, para directamente cortar las costillas, tanto sobre la articulación costo-condral como sobre la articulación costo-vertebral (Foto 10). De esta manera se podrá extraer la parrilla costal derecha completa y acceder a la cavidad torácica para poder observar los órganos *in situ*.



Remoción y examen de los órganos de cavidad bucal, cuello y tórax

Sacar conjuntamente la lengua, tráquea, esófago, pulmones y corazón con el saco cardíaco intacto. Para ello se deberá hacer incisiones profundas a ambos lados de la lengua sobre las ramas de la mandíbula (Foto 11 y Foto 12A). De esta manera se irá separando la lengua, cortando el frenillo (foto 12B). Para poder continuar con la remoción de la lengua, se deberá desarticular los huesos hioides "Glottis". Esto debe hacerse incidiendo sus cartílagos (Fotos 12C y 12D). De esta manera se liberará la lengua y se podrá seguir incidiendo laringe para poder disecar faringe, glotis, tráquea y esófago hacia caudal (Foto 13). Luego se podrán extraer los pulmones cortando mediastino en su inserción dorsal y cortando la aorta; luego el corazón, evitando incidir el saco pericárdico y finalmente cortando el esófago antes de su paso por el diafragma. De esta manera, extraemos en conjunto todo el tracto respiratorio inferior, junto a corazón, grandes vasos, y lengua para su posterior examen (Foto 14).



Foto 11



Foto 12



Foto 13



Foto 14

Paladar: tanto el paladar, como los carrillos, se podrán revisar cuando se está extrayendo la lengua o luego de extraerla, para tratar de detectar lesiones erosivas o ulcerativas en su mucosa.

Linfonódulos regionales, tiroides y glándulas salivares: los mismos deberán ser inspeccionados *in situ*.

Lengua: Debe revisarse inicialmente su superficie para detectar lesiones y luego hacer cortes longitudinales para tratar de detectar lesiones en la porción muscular.

Faringe: se pueden detectar lesiones en su mucosa, principalmente.

Esófago: se puede diseccionar el esófago de la tráquea, o simplemente abrirlo *in situ* desde la luz con un cuchillo o tijera a lo largo de toda su extensión (Foto 15). De esta manera se podrá revisar su mucosa para tratar de detectar lesiones ulcerativas o erosivas en su extensión, entre otras.



Traquea

Esófago

Foto 15

Tráquea, bronquios y pulmones: abrir la tráquea desde la luz en toda su extensión, con la ayuda de cuchillo o tijera, sobre todo en su mucosa, que puede presentar lesiones (Foto 16). Luego, seguir la bifurcación de los bronquios y continuar cortando a lo largo de los más pequeños para ir entrando en el parénquima pulmonar. Además hacer cortes longitudinales en las diferentes áreas pulmonares, para detectar la presencia de cambios de consistencia y coloración (compatibles con un proceso neumónico), presencia de exudados, estructuras parasitarias (nematodos o quistes), entre otros. Además, revisar linfonódulos mediastínicos y otras estructuras anexas. Una vez que se hayan extraído todos los órganos de la cavidad torácica, revisar la superficie costal, las vértebras, esternón, pleura, entre otras. Examinar la médula ósea en las costillas fracturando algunas. Examinar el diafragma.

Corazón: abrir el saco pericárdico y observar características y cantidad de líquido pericárdico, además de alguna otra anomalía. Para abrir el corazón, cortar a lo largo de los ventrículos izquierdo y derecho (Foto 17); examinar las válvulas, aurículas y salida de grandes vasos cuidadosamente.



Foto 16

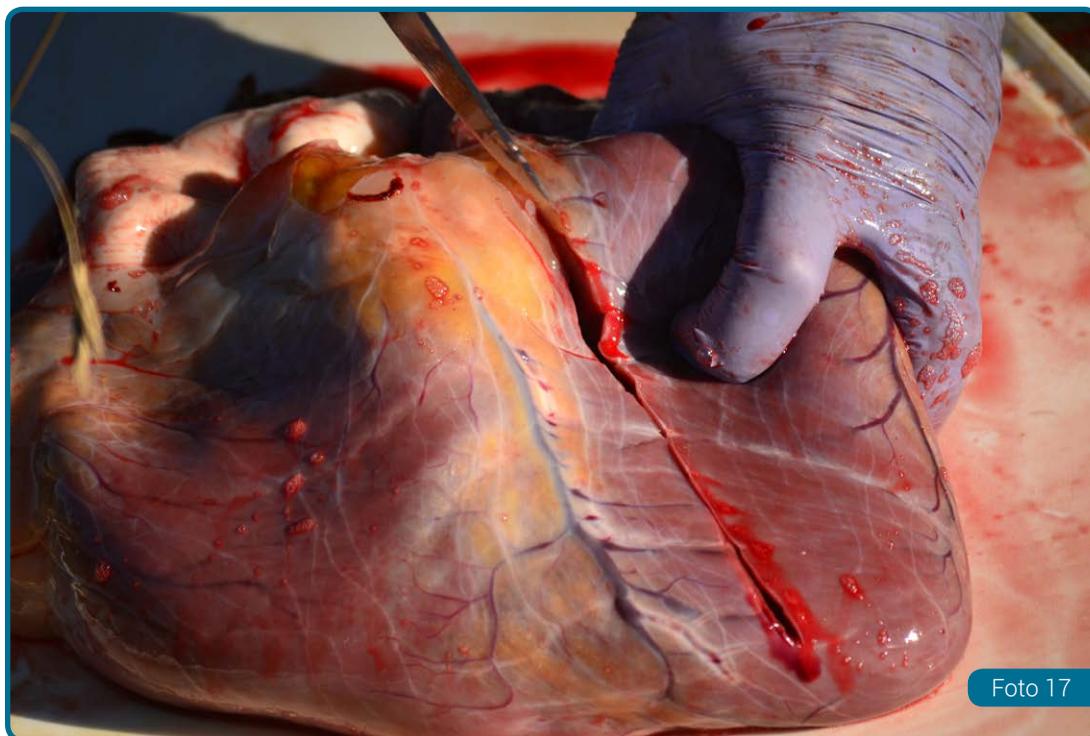


Foto 17

Remoción y examen de las vísceras abdominales

Hígado y vesícula biliar: remover el hígado, disecándolo del duodeno y de sus inserciones para ser examinado (Foto 18). Evaluar el tamaño de vesícula biliar y presionarla para corroborar que haya salida de bilis por colédoco y descartar posibles obstrucciones. Abrir la vesícula biliar y los conductos biliares con tijeras, siguiendo su recorrido para evaluar presencia de estructuras parasitarias (trematodos). Examinar linfonódulo hepático, cercano a la descarga del colédoco en duodeno. Hacer cortes longitudinales en el parénquima hepático (Foto 19) para evaluar presencia de lesiones y/o estructuras parasitarias, entre otras.



Foto 18



Foto 19

Abomaso: separar el abomaso utilizando hilo o precintos plásticos en el píloro (Foto 20) para evitar salida de contenido hacia caudal. Para evaluar pH de contenido abomasal (siempre y cuando el animal haya sido eutanasiado o haya muerto recientemente, ya que puede alterarse luego de un tiempo), hacer un pequeño corte e introducir una cinta para medir pH durante 1 minuto, corroborando que está en contacto con el contenido abomasal. Para realizar conteos de larvas y estadios adultos de nemátodos, vaciar el contenido abomasal en un recipiente (ver Laboratorio de Parasitología). Luego verificar las características de la mucosa para evaluar posibles lesiones.



Foto 20

Rumen, retículo y omaso: los preestómagos pueden ser evaluados *in situ*, para estudiar características físicas de sus contenidos y sus paredes. En este sentido, se podría evaluar el pH de contenido ruminal de la misma manera descrito anteriormente para contenido abomasal. Usualmente, el contenido omasal es más sólido (Foto 21), con poca cantidad de contenido líquido, a diferencia del resto de los preestómagos y abomaso. Evaluar las mucosas y la pared más profunda de los diferentes preestómagos (Foto 22) para evaluar posibles lesiones.



Intestinos: si no se tratase de una sospecha de enfermedad clínica gastrointestinal, se sugiere revisar las diferentes porciones del tracto intestinal en su totalidad cada 1 metro, mediante cortes longitudinales regulares. Si se tratase de una enfermedad clínica gastrointestinal, revisarlo en su totalidad, debridando los intestinos de los mesos, para poder ir cortando desde la luz con tijera. Ante la sospecha de enfermedad parasitaria, el duodeno debería ser ligado para recuperar contenido y futura evaluación. Para evitar contaminación con la microbiota gastrointestinal, se sugiere realizar el examen del aparato digestivo al final cuando todos los demás órganos hayan sido examinados. Detectar la válvula ileocecal para evaluar sus características (Foto 23). Además, revisar linfonódulos mesentéricos y adyacentes.



Riñones y glándula adrenal: removerlos en conjunto, comenzando con el riñón y glándula derechos que resulta más expuesto. Hacer lo mismo con el riñón y glándula izquierdos. Revisar los riñones haciendo un corte longitudinal en el medio del órgano y de esta manera será más sencilla separar la cápsula renal observar la superficie exterior del riñón (Foto 24). Luego revisar las áreas más profundas de los riñones. De manera similar, cortar longitudinalmente las glándulas adrenales para evaluar características de corteza y médula.



Foto 24

Páncreas: el páncreas suele pasar desapercibido en la necropsia, pero debe ser disecado del duodeno y examinado.

Bazo: suele quedar adherido a la pared ruminal. Evaluar su tamaño, espesor y características de parénquima. En el caso que se sospechara con anterioridad que es posible que se trate de Carbunco (*Bacillus anthracis*), usualmente se coloca al cadáver en decúbito lateral derecho para realizar una "ventana" en la parrilla costal izquierda, incidiendo la piel hacia dorsal entre las costillas 9° y 11° (Foto 25) y entrando en cavidad abdominal para evaluar, con recaudo, el tamaño del bazo, que si se encontrara agrandado, podrá detectarse fácilmente. De esta manera, terminamos en este momento la necropsia para evitar contaminación del medio y exposición del personal actuante.

Vejiga: examinarla, extrayendo orina, observar su color y consistencia. Revisar su mucosa.

Aorta abdominal: abrir la aorta y sus ramas mayores examinando la superficie de la íntima.



Foto 25

Cabeza

Separar la cabeza desarticulando la articulación atlanto-occipital. Antes de hacerlo completamente, se sugiere preparar el campo para probar la extracción de líquido cefalorraquídeo (LCR). Para esto, hacer cortes apoyando el filo del cuchillo sobre los cóndilos del occipital, sin incidirlo directamente. De esta manera se exponerá la meninge y así, se podrá ingresar con jeringa y aguja para extraer LCR para futuro análisis (Foto 26).

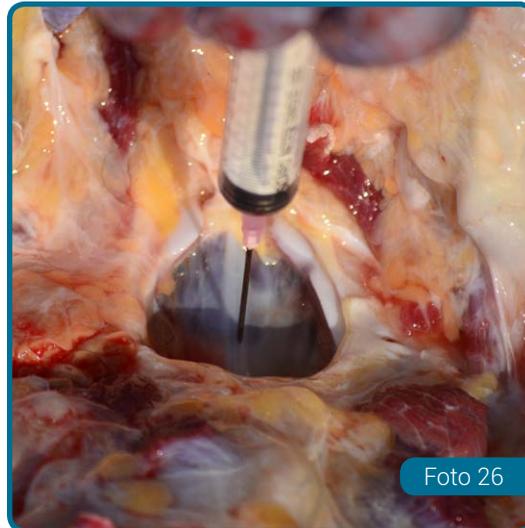


Foto 26

Encéfalo: utilizando sierra o hacha incidir el cráneo realizando 3 cortes diferentes: por un lado, un corte que una las 2 órbitas oculares; 2 cortes que unan cada una de las órbitas oculares (derecha e izquierda) con la zona medial de cada uno de los cóndilos del occipital (derecho e izquierdo), respectivamente (Foto 27). Esto

permitirá levantar el calvario completamente, exponiendo el encéfalo. Para incidirlo, se deberá cortar la duramadre con tijera o bisturí para visualizar el encéfalo *in situ*. En este momento se podrán extraer muestras de encéfalo para identificar de agentes bacterianos o virales, entre otros. Luego se podrá sacar el encéfalo de la cavidad craneana, haciendo cortes en la salida de los nervios craneales, primero en bulbo olfatorio, nervio óptico y otros pares craneales. De esta manera el encéfalo caerá hacia atrás (Foto 28).

Examinar el cerebro completo, evaluando meninges, y luego cortarlo transversalmente en rodajas para evaluar el neuropilo.



Foto 27

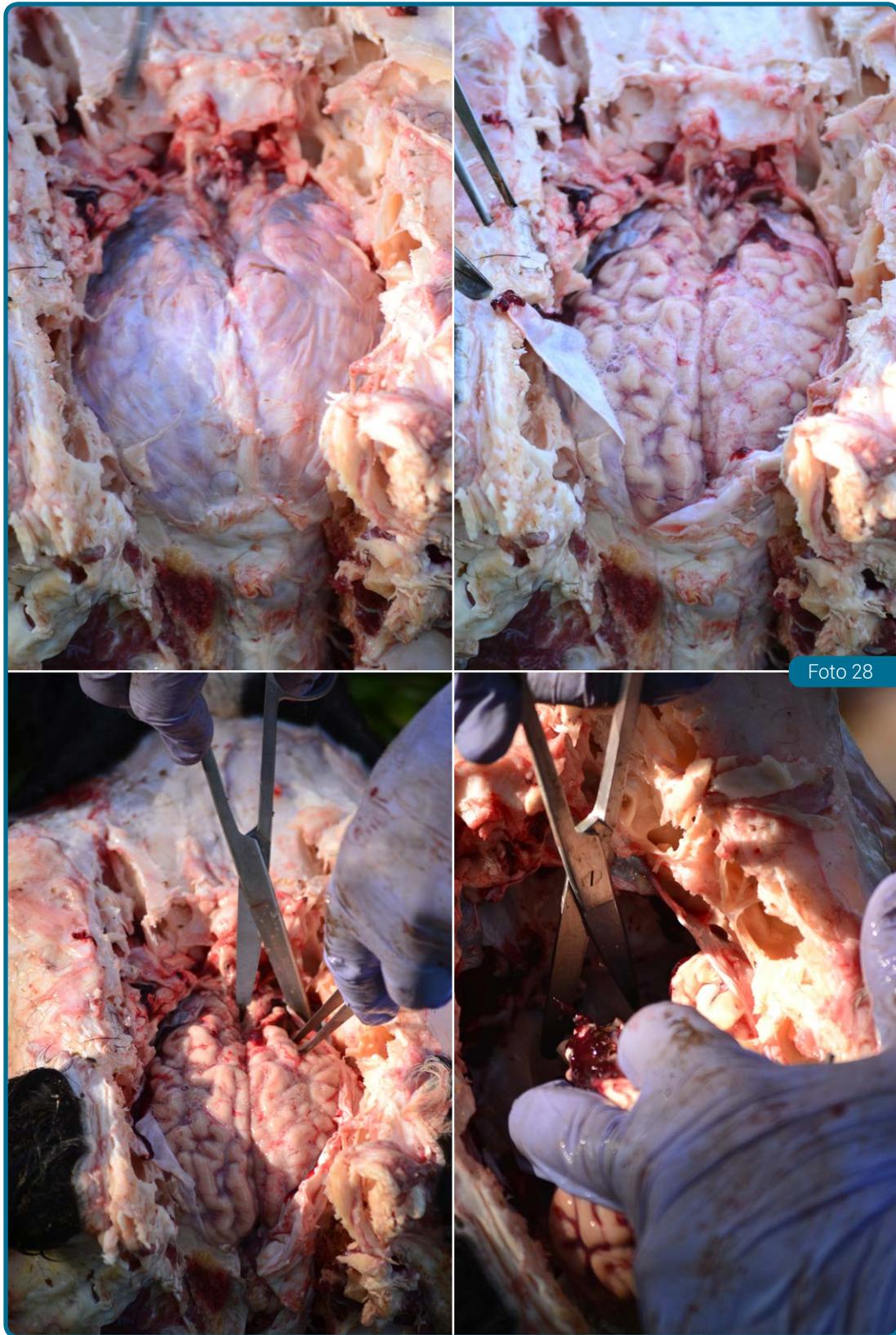


Foto 28

Ojos y estructuras orbitales: utilizando bisturí o tijeras curvas, cortar alrededor del margen orbital, ayudándose con una pinza. Extraer de las órbitas todas las estructuras blandas y cortar en el fondo el nervio óptico. Examinar los párpados, músculos oculares y glándulas lagrimales. Fijar el globo ocular en formol o fijador de Zenker y una vez fijado cortarlo verticalmente y revisar las estructuras internas. En este momento, también se podrá extraer humor vítreo (cámara vítrea) (Foto 29) o acuoso (cámara anterior) para futuros análisis.



Foto 29

Oídos externo, medio e interno: examinar y cortar los pabellones del oído, observar por la posible presencia de parásitos. Exponer y examinar el canal auditivo externo y los tímpanos. Con un fórceps para hueso y un cincel exponer las estructuras del oído medio e interno.

Cavidad nasal: examinar el interior de la cavidad nasal, si fuera necesario, hacer cortes transversales. Los senos podrían ser abiertos si es necesario.

----- Examen de otras estructuras -----

Articulaciones: desarticular y examinar diferentes articulaciones y superficies articulares, evaluando las características del líquido sinovial. Las masas musculares también deberán ser palpadas y examinadas mediante cortes profundos.

Glándula mamaria y linfonódulos supramamarios: evaluarlos in situ, para detectar posibles alteraciones. Palpar y cortar todos los cuartos de la glándula, abrir los pezones y cisternas.

Sistema genital del macho: evaluar vesículas seminales, próstata, testículos, el prepucio y el pene. Abrir el escroto y sacar los testículos y cordones espermáticos, disecando hasta el cuello de la vejiga. Cortar alrededor de la abertura pélvica. Extraer el recto y estructuras urogenitales ubicadas en la pelvis. Disecar y examinar cada una de las partes.

Sistema genital de la hembra: extraer el recto con la vulva, vagina, cuello y cuernos del útero, disecar y examinar cada una de las partes. Extraer y examinar los ovarios. Si el animal está preñado revisar el feto y estructuras placentarias.

Médula espinal: extraer los músculos que rodean la zona y cortar los cuerpos vertebrales con hacha, hasta llegar al canal vertebral. Otra alternativa es realizando cortes con sierra o hacha de diferentes porciones de la columna vertebral (cervical, torácica, lumbar, sacra) y luego extraer la médula espinal con cuidadosa tracción.

Descripción anátomo-patológica e informe de necropsia

*Germán Cantón
Ernesto Odriozola
Ignacio Llada*



Descripción anátomo-patológica

El objetivo de la técnica de necropsia es inspeccionar los diferentes sistemas, para tratar de reconocer, caracterizar e interpretar las lesiones presentes. Para el operador no experimentado, muchas veces se dificulta la identificación de cambios que ocurrieron *ante mortem* (patológicos) de aquellos cambios *post mortem* (autólisis). Este ejercicio es fundamental, para no malinterpretar hallazgos de necropsia, sobre todo en especímenes que ya llevan varias horas de muerto, dependiendo de la época del año con sus condiciones ambientales que pueden acelerar el proceso de autólisis.

Una vez subsanada esta problemática, la identificación de lesiones *ante mortem*, puede verse facilitada. El ejercicio comienza tratando de dilucidar si lo que estamos viendo en el animal es normal o anormal. Si el hallazgo es anormal, tratar de describir que es la anomalía para poder interpretar el proceso patológico, y en conjunto con la historia clínica y la anamnesis, poder darle un nombre a la enfermedad.

Inicialmente, la descripción anátomo-patológica de una necropsia debería comenzar con la descripción del aspecto general del animal, luego la descripción de cada órgano y tejido, para poder relacionarlo con el cuadro clínico. La patología macroscópica de algunas patologías en particular, puede ser suficientemente distintiva en su patrón para poder inferir rápidamente en un diagnóstico, solo con la necropsia. Para otras patologías, las lesiones son altamente sugestivas de una determinada enfermedad. Otras veces el patrón de las lesiones sugieren una patogénesis o mecanismo que produjo el cuadro clínico. Relacionar diferentes noxas o mecanismos que muestran patrones similares es útil para poder arribar a un diagnóstico de enfermedades de presentación poco frecuente o en especies en las que no tenemos tanta experiencia.

En la mayoría de los casos, las lesiones no son suficientemente específicas y se requiere de otras técnicas para confirmar el diagnóstico etiológico.

La descripción macroscópica de las lesiones debe ser objetiva, en cambio, cada uno puede hacer una interpretación de esa lesión, que puede ser subjetiva y abierta a discusión. Esta interpretación puede ser cambiada retrospectivamente. Por ejemplo, uno podría describir que: "el pulmón estaba difusamente coloreado de rojo, pesado, con exudado espumoso al corte, y se sentía más firme que lo normal" y la interpretación de esta descripción, podría ser que se trataba de "congestión y edema pulmonar difuso" o una "neumonía intersticial difusa aguda".

Durante la descripción anátomo-patológica se debería describir el **tamaño** del órgano, indicar su medida exacta o aproximada, o hacer asociaciones con otras estruc-

turas cercanas o de fácil reconocimiento: “la vejiga tenía un tamaño aproximado de una pelota de tenis”. Sin embargo, en muchos casos, el tamaño es difícil de evaluar por la falta de contraste, aunque se simplifica cuando se trata de órganos pares. Si el tamaño del órgano está aumentado, podría indicar hiperplasia, edema, neoplasia, congestión o inflamación. Por el contrario, si el órgano está reducido en su tamaño habitual, podría indicar hipoplasia, atrofia, necrosis, fibrosis, entre otras. También hay que tener en cuenta que muchos órganos y tejidos son fisiológicamente dinámicos por lo que su tamaño y forma pueden cambiar en respuesta a demandas fisiológicas (útero en la gestación, o glándula mamaria durante la lactación, por ejemplo).

Algo que es muy importante describir, sobre todo cuando se intenta inferir la implicancia que pueda tener una lesión y asociarla a la causa de muerte, es qué porcentaje del órgano se encuentra afectado y evaluar la potencial pérdida de funcionalidad, para estimar la significancia clínica de la lesión. Un ejemplo de esto, es explicar la muerte en un animal que presenta lesiones neumónicas muy pequeñas. Posiblemente solo sea un hallazgo incidental, sin relación con la clínica que el animal manifestaba previo a su muerte.

Cuando se describe el tamaño de las lesiones multifocales, y estas son “uniformes” podría indicar que son recientes o que progresan de manera similar. En cambio si el tamaño de las lesiones es “no uniforme”, podría explicar que éstas se originaron en diferentes momentos o que progresan de manera diferente.

La evaluación del **peso** del tejido es más difícil en condiciones de campo, pero se podría estimar para asociarlo cuando es más pesado que lo habitual, aunque podría ser una descripción subjetiva. Sirve en algunos tejidos como puede ser el pulmón, donde podría haber edema o congestión, y se podrá notar más pesado que lo habitual.

Se debería describir la **distribución** que tienen las lesiones. Puede ser de distribución aleatoria, cuando las lesiones no tienen ninguna referencia con respecto a la arquitectura o relación a un órgano o tejido (ej.: abscesos, tumores). Pueden ser de distribución simétrica o bilateral, cuando hay algún nivel de organización (ej.: desorden metabólico, toxemia). Las lesiones pueden tener distribución focal (Foto 29), cuando es única y definida sobre un tejido normal o sobre un tejido que luce diferente al foco (ej.: infarto hepático en un caso de Hemoglobinuria bacilar) o multifocal (Foto 30), cuando es más de una lesión simple y demarcada sobre un tejido (ej: múltiples granulomas tuberculosos). Puede agregarse el término “extendido” para hacer referencia a que no son solamente 2 o 3 focos. También podría agregarse el término “coalescente” (Foto 31) cuando hay 2 o 3 focos que tienden a coalescer. Con respecto a la distribución, hay algunas que suelen asociarse a algunas enfermedades en particular, como es el caso de una distribución “miliar”, un tipo especial de distribución multifocal cuando hay muchos focos pequeños difícil de contar, que generalmente hace referencia a Tuberculosis.

También se podría usar el término “segmental” al tratar de describir la distribución la lesión, cuando ésta asienta en una porción definida de tejido (por ejemplo en el intestino), lo que implica que posiblemente haya una restricción anatómica o fisiológica que la explique. Otro término útil, es el de distribución “difusa” cuando todo el tejido está afectado, y a veces se hace difícil apreciar ya que no hay tejido normal que sirva de contraste.

Otro aspecto a tener en cuenta al describir una lesión, es caracterizar los **márgenes** que tiene, para ver el grado en el que la lesión está bien definida del tejido adyacente normal. Este margen puede ser “bien delimitado” cuando el límite es abrupto,

discreto o la lesión está contenida, separada del tejido normal (ej.: tumores, abscesos). Por el contrario, el margen puede ser "difuso o poco delimitado" cuando el límite no es fácilmente visible lo que podría indicar que el proceso gradualmente infiltra el tejido normal o es pobremente contenido.

En algunos casos podrá evaluarse la **superficie** que presenta el órgano. Es así que la superficie podrá estar "deprimida" lo que podría indicar que parte del tejido está necrosado o atrofiado. En otros casos la superficie de la lesión podrá estar "sobreelevada" lo que implicaría que algo se ha agregado al tejido lo que causa una expansión. Esto podría deberse al agregado de algún fluido (sangre, trasudado, exudado, orina, entre otros), gas (enfisema), células normales (hiperplasia, inflamación), células anormales (neoplasia), estroma (tejido fibroso, cartílago, hueso, entre otros), o algún cuerpo extraño (parásitos o material vegetal). Cuando la superficie está "plana", la lesión no está elevada ni deprimida con respecto al tejido adyacente, podría indicar que el evento fue reciente o fue un proceso que no causa expansión o necrosis. Otros términos que podrían agregarse en ese sentido, para tratar de caracterizar mejor la lesión, es el de "prominente", "corrugado", "costroso", "granular", "rugoso", "liso", "ulcerado", "umbilicado", "verrucoso", entre otros.

Respecto a la **forma**, muchas veces podrá estar asociada a una forma geométrica, dependiendo de la vasculatura de los tejidos (ej.: infartos o lesiones segmentales). Podrá ser "circular", "ovoide", "irregular", entre otros.

El **color** que pueda tener el tejido dependerá de su color original, presencia de pigmentos especiales o tejido adiposo, y la cantidad de sangre. Este último aspecto es fundamental al describir la coloración en un animal que fue eutanasiado (exsanguinado) o en un animal que murió espontáneamente. Algunos tejidos, muy vascularizados, pueden presentar una coloración mucho más clara en un animal exsanguinado. Teniendo en cuenta esto último, el tejido podría estar "rojizo" (congestivo o hemorrágico), "blanco/gris" (necrosis, fibrosis, exudado, hiperplasia, malacia, entre otros), "amarillo" (ictericia), "verdoso" (bilis, necrosis, algunas infecciones fúngicas, neumonías por aspiración), "negro/verdoso" (pseudomelanosis, melanosis), "negro/marrón" (melanosis, melanomas, algunas infecciones fúngicas, hemosiderina).

También podría describirse la **textura o consistencia** que tiene el tejido al corte. Podría ser "amorfo" o "semisólida", cuando no tiene una arquitectura normal, no mantiene su forma (ej.: pus, exudado, necrosis). Por el contrario, podría tener una textura "sólida" cuando mantiene la arquitectura y forma normal, lo que generalmente indicará que presenta células viables (ej.: hiperplasia, neoplasias, etc.).

También a la palpación del tejido podrá detectarse la presencia de gas (enfisema) o de algún fluido, que podría describirse como: "seroso" (fluido claro, posible fluido extracelular, orina, trasudado, edema), "serosanguinolento" (claro pero teñido de sangre, posible hallazgo *post mortem* en cavidades), "serofibrinoso" o "fibrinoso" (traslucido con gránulos opacos blanquecinos) o "purulento" a "seropurulento" a "fibrinopurulento" (opaco, más fino o más denso). A su vez, al tacto, el tejido puede estar "suave" lo que podría indicar que hay mucho fluido, o con pocas células o estroma; o podría estar "firme", que indicaría presencia de poco fluido o con muchas células (hiperplasia, neoplasia) o estroma (fibrosis). Un caso particular, que puede detectarse al tacto, es la presencia de mineralización, cuando al tacto se detecte de aspecto "duro" o "granulado".

Algunos hallazgos poco habituales que podrían ayudar a describir alguna lesión, es evaluar si el tejido genera algún **sonido** al incidirlo. Este podría generar un soni-

do “crepitante” que podría indicar la presencia de enfisema producto de bacterias productoras de gas (ej.: clostridiales), por ejemplo. Podría detectarse un sonido tipo “chapoteo” que podría indicar la presencia de fluidos: edema, ascites, efusión pleural, etc. También podría notarse que suena “duro” al golpe, lo que podría indicar mineralización.

Otro hallazgo es el **olor** que genera el tejido. Descartando el olor habitual del proceso de autólisis, se podría inferir la presencia de necrosis putrefactiva o contaminación bacteriana, así como olor amoniacal, en el caso de uremia, urolitiasis, etc.

Cambios *post mortem*:

Diversos factores extrínsecos o intrínsecos pueden influir en la presentación de los cambios *post mortem* (autólisis) en un cadáver. El tiempo transcurrido entre la hora de la muerte y el momento en que se realiza la necropsia, la temperatura y humedad ambiente, entre otros factores, pueden influir en la rapidez en que comienzan estos procesos naturales.

Para poder estimar el tiempo de transcurrida la muerte, puede tenerse en cuenta diversas características cadavéricas. La temperatura que presente el cadáver es una de ellas, ya que la misma desciende luego de varias horas de muerte. Puede observarse además enturbamiento corneal y retracción del globo ocular así como la presencia de sangre coagulada dentro de vasos sanguíneos o corazón.

Se puede observar el grado de rigidez cadavérica (*rigor mortis*) que suele iniciarse a las 2-3 horas de la muerte, es máxima a las 8-12 hs post mortem y desaparece posteriormente.

Otro signo característico del proceso de autólisis es la aparición de manchas de color rojo-azuladas en la piel de la zona inferior del cadáver (*livor mortis*) que posteriormente cambia de coloración. Puede observarse además hipostasia visceral, donde la sangre sedimenta en zonas de declive (muy comúnmente observable en el pulmón que queda de acuerdo al decúbito que presente el animal).

El proceso de autólisis no presenta la misma velocidad de aparición en todos los tejidos: aquellos donde el contenido enzimático es mayor sufren autólisis más rápidamente (sistema nervioso, riñón, tracto gastrointestinal, hígado, entre otros). Suele observarse imbibición de diferentes tejidos por hemoglobina o bilis. La primera es muy frecuentemente detectada en serosas de tracto gastrointestinal, mientras que la imbibición de bilis (coloración verdosa) ocurre en tejido hepático y serosa duodenal, al tomar contacto con la vesícula. Algunas vísceras pueden parecer más pálidas, por compresión de otras vísceras distendidas con gas, producto de la fermentación *post mortem*.

Informe de necropsia

El informe de necropsia que cada veterinario realice, ya sea para sí mismo, para enviar al laboratorio de diagnóstico, o para enviar a la empresa que lo solicita, debería incluir un número identificador que permita fácilmente recordar el caso. Además,

se debe incluir la especie animal, edad, sexo, raza e identificación del individuo. Además se debería estimar el grado de autólisis que presentaba el animal al realizar la necropsia, el estado nutricional que presentaba y si fuera posible la historia clínica previa a su muerte.

Posteriormente, deberán describirse todos los tejidos y órganos, utilizando como recordatorio la guía de la sección anterior. También es útil tener una lista recordatoria de los diferentes tejidos para no olvidar revisar ninguno. A continuación se muestra un modelo de planilla de necropsia a utilizar.

INFORME DE NECROPSIA

Especie:

Sexo:

Raza e identificación:

Edad:

Grado de autólisis (de 0 a 3):

Hallazgos de necropsia:

- Piel y anexos:
- Sistema digestivo y peritoneo:
- Hígado:
- Bazo:
- Riñones, uréteres, vejiga, uretra:
- Sistema respiratorio:
- Sistema circulatorio:
- Sistema genital:
- Linfonódulos:
- Músculos esqueléticos y huesos:
- Sistema nervioso:
- Órganos de los sentidos:

Observaciones:

.....

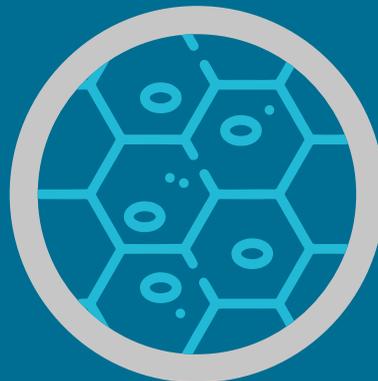
.....

Muestras recolectadas para:

- Bacteriología:
- Virología:
- Enfermedades transmisión sexual:
- Bioquímica clínica:
- Toxicología:
- Parasitología:
- Histopatología:
- Otros laboratorios:

Muestreo de tejidos y otros especímenes para análisis

*Germán Cantón
Ernesto Odriozola
Eduardo Fernández
Andrea Fiorentino
Mercedes Lloberas
Eleonora Morrell
Anselmo Odeón
Fernando Paolicchi*



Un momento fundamental durante la realización de la necropsia y que permitirá confirmar el diagnóstico etiológico de la causa de la problemática sanitaria, es el muestreo de tejidos y fluidos.

En ese sentido, la realización de la necropsia deberá ser metódica y prolija para tratar de evitar contaminar el tejido que quiera ser muestreado posteriormente. En tal sentido, es importante evaluar si se justifica realizar algún muestreo, dependiendo del grado de autólisis que tenga el cadáver.

A continuación se mencionarán los especímenes y condiciones de muestreo y envío que debieran tenerse en cuenta para el diagnóstico etiológico de los problemas sanitarios más frecuentes en los sistemas de producción ganadera de la zona.

A tal fin, se seguirá un orden que generalmente se sugiere realizar durante la necropsia. Para eso, usualmente se recolectan en primeras instancias las muestras que se pretenden lleguen al laboratorio con la menor contaminación posible (bacteriología, principalmente), para luego tomar muestras que quizás no requieran tantos recaudos (virología, bioquímica clínica, entre otros).



Recolección de muestras, envío y procesamiento

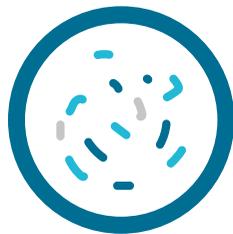
El laboratorio debería recibir las muestras lo antes posible. Si éstas han de remitirse por un servicio de encomiendas, calcule el tiempo que demorará el transporte, para evitar que arriben al laboratorio fuera de hora o durante el fin de semana. Las muestras deben embalarse apropiadamente, dependiendo de los objetivos del mismo, colocando abundantes *sachets* con refrigerante o hielo en una conservadora de "telgopor" que no tenga pérdidas, también se podrían usar para tal fin botellas plásticas con agua congelada. Dependiendo de cada una de las técnicas a aplicar, se harán comentarios pertinentes en las secciones siguientes. Salvo algunas técnicas, en general las muestras de tejidos y fluidos no deben congelarse. En tiempo de temperaturas ambientes elevadas, colocar abundante refrigerante para el envío.

Junto a los especímenes remitidos, debe incluirse una nota (dentro de un folio o bolsa) con los antecedentes del caso y una correcta identificación del material remitido. Además, incluir un número telefónico y/o correo electrónico de contacto, llegado el caso que el laboratorio tenga dudas acerca de las muestras o para que el laboratorista pueda enviar algún resultado preliminar urgente.

Envases e instrumental para muestreo

Las muestras de tejidos o fluidos en los que se pretenda realizar la detección de un agente infeccioso, deben, indefectiblemente, ser colocadas en envases plásticos estériles para tal fin, con cierre hermético, sin pérdidas. Otra alternativa es el uso de bolsas plásticas para muestreos (tipo WIRLPACK). Se sugiere no enviar tejidos en otro tipo de contenedor (bolsas plásticas comunes, guantes de tacto, etc.) ya que muchas veces se desconoce si pudieran estar contaminado y además es necesario extremar medidas para evitar filtraciones del material que pudiera ser peligroso.

El instrumental (pinzas diente ratón, tijeras, bisturí) que se utiliza para la extracción de especímenes en los que se pretenda realizar la detección de un agente infeccioso (bacterias, virus, protozoos) debe estar limpio, seco y bien afilado. Previo a su uso, se deben sumergir en un recipiente con alcohol y se deben flamear (y dejar apagar sólo), logrando así asegurar la asepsia. No se deben usar desinfectantes químicos (lugol, iodados, mercuriales, amonios cuaternarios, etc.) para desinfectar el instrumental previo al muestreo.



Laboratorio de Bacteriología

El diagnóstico de muchas enfermedades bacterianas con muestras recolectadas durante una necropsia, se basa principalmente en el cultivo en medios específicos en diferentes condiciones de atmósferas (aerobiosis, microaerobiosis o anaerobiosis) y aislamiento y tipificación bacteriana, y/o en la identificación de las bacterias por técnicas como inmunofluorescencia directa, y/o en la detección de material genético de estas bacterias mediante pruebas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las muestras enviadas para cultivo bacteriológico deben ser depositadas en recipientes individuales estériles. Las muestras recolectadas deben refrigerarse (4°C) desde su recolección hasta el envío al laboratorio. En este caso en particular, además de la información anamnésica ya mencionada, es importante mencionar si los animales, previo a la necropsia, habían recibido algún tratamiento con antibióticos y si habían sido vacunados. Cabe enfatizar que en cualquier situación, la mejor muestra proviene de la necropsia de un animal eutanasiado enfermo y no tratado con antibióticos. Por otro lado, se debe recordar que ya en los estadios agónicos puede ocurrir invasión de la microbiota gastrointestinal a los tejidos circundantes y por ende el diagnóstico bacteriológico podría ser erróneo ya que la contaminación *post mortem* interfiere en el aislamiento de algunos patógenos.

Las muestras de tejidos/órganos en los que se quiera intentar un cultivo y aislamiento bacteriano deberían tener un tamaño aproximado de 5x5 cm, se extraerán al abrigo de la llama y cuidando de mantener las mejores condiciones ambientales de asepsia. Cuando se reconozca que existe contaminación previa, se deberá sumergir el trozo de tejido en alcohol y flamearlo superficialmente. Se examinarán externamente los órganos y se extraerán trozos donde se localicen las lesiones e idealmente en el límite con las secciones donde el tejido tenga aspecto normal. En caso de secreciones, exudados o abscesos superficiales, limpiar la piel con alcohol 70°, recoger el material con hisopos estériles e introducirlo en un tubo estéril.

Dependiendo de la patología que se pretenda investigar, generalmente los órganos de elección para toma de muestras son el bazo, pulmón, hígado y riñón.

Si se desea realizar un cultivo de alguna sección intestinal, ante sospecha de un proceso entérico (**diarrea neonatal**, por ejemplo), se deberán ligar los extremos de la sección a cultivar, manteniendo su contenido intacto. A veces es recomendable,

además de la sección intestinal, también recolectar un linfonódulo mesentérico que la drene, para evaluar si la bacteria que se pretenda detectar, ya está invadiendo.

De manera similar, ante una sospecha de **Salmonelosis**, se puede enviar refrigerado (no congelar): contenido intestinal, duodeno, yeyuno, hígado, bilis, bazo, pulmón y linfonódulos regionales, para su aislamiento. Cabe recordar que el aislamiento de *Salmonella* de contenido intestinal, linfonódulos mesentéricos, hígado e incluso bilis, no necesariamente indique un cuadro de salmonelosis, ya que podría tratarse solo de un animal portador asintomático.

Ante la sospecha de un proceso de **neumonía** se recomienda enviar trozos del pulmón afectado refrigerados y linfonódulos mediastínicos. Algunos de estos agentes resisten la congelación, por lo que si se tratase de una necropsia, cercana a un fin de semana, podría conservarse de esta manera hasta su envío al laboratorio de Bacteriología.

En el caso que se requiera el cultivo de **sistema nervioso central**, generalmente se recomienda la elección de base cerebral (tronco encefálico) ya que muchos de los agentes bacterianos asientan en esa localización. También se puede enviar muestra de líquido cefalorraquídeo. Se sugiere el envío de parte de la muestra refrigerada y parte congelada.

Ante la sospecha de un caso de **Carbunco** bacteridiano, se recomienda no realizar la necropsia de los animales muertos. Si ésta se hubiera realizado, se extraerán trozos de bazo. Para evitar la realización de una necropsia completa y la exposición del ambiente y el personal de campo a *Bacillus anthracis*, se recomienda el envío de un hueso largo (metacarpo o metatarso) (Foto 30), previamente cuereado y descarnado, envuelto en varias bolsas plásticas, para intentar el aislamiento bacteriano a partir de médula ósea. También se podrían analizar frotis de sangre que saliera por aberturas naturales del cadáver, secados al aire y envueltos en papel, aunque en este caso sería difícil confirmar el diagnóstico ya que otros *Bacillus* podrían estar presentes en la muestra. Si hubiera



Foto 30

existido contacto directo de los humanos con el material sospechoso de infección consultar inmediatamente a un médico, ya que podría ser necesaria la inmediata instauración de un tratamiento antibacteriano.

Ante un cuadro con sospecha de **Tuberculosis**, se recomienda el envío de material refrigerado (4-8°C): tejidos con lesiones, linfonódulos de la región faríngea, tórax y abdomen. Los hisopados nasales podrían ser útiles pero se debería tener precaución de tomar muy al fondo del orificio nasal.

Ante la sospecha de un caso de **Paratuberculosis**, se sugiere remitir válvula ileocecal y/o varios trozos de intestino de 5 cm, libres de contenido y que presenten lesión macroscópica. Deberán incluirse también muestras de linfonódulos mesentéricos, de la región ileocecal, especialmente aquellos que se observen edematosos y agrandados en su tamaño y asociados a la región del intestino donde se encuentre la mucosa afectada. En caso de biopsia rectal deberán remitirse por lo menos dos muestras de la porción más anterior posible acompañadas de una muestra de suero del animal. Se conservarán las muestras refrigeradas o congeladas. Pueden enviarse improntas realizadas a partir de biopsias de recto o de lesiones de linfonódulos o tejido intestinal, secadas al aire y envueltas en papel.

En el caso de sospecha de **Leptospirosis**, lamentablemente no existen muchos laboratorios con la capacidad de realizar cultivo. Si lo hubiera, la muestra recomendada, dependiendo de la categoría afectada, es el riñón o la orina. Otra alternativa de diagnóstico es realizar improntas de tejidos (riñones, bazo, hígado, pulmones), las que se sugiere que sean fijadas en acetona durante 10 minutos, y luego enviadas al laboratorio para intentar identificar a *Leptospira* spp.

Si se sospechara de una **enfermedad clostridial**, recordar que muchos de estos agentes son anaerobios estrictos, por lo que se deberá mantener esta condición durante el envío de la muestra al laboratorio. Se recomienda tomar la muestra de tejido a analizar (por ejemplo: músculo esquelético en un caso de Mancha, o hígado ante la sospecha de Hemoglobinuria bacilar) y sumergirla en un recipiente con glicerina estéril. Otra alternativa es tomar una muestra lo suficientemente grande para que entre a presión en el envase contenedor. También existen sobres comerciales para crear condiciones de anaerobiosis en jarras que podrían ser solicitadas al laboratorio ante la sospecha de este tipo de enfermedades. Utilizando estas alternativas, se elimina la mayor cantidad de aire posible de los alrededores del tejido, permitiendo tener más éxito en el cultivo en condiciones de anaerobiosis.

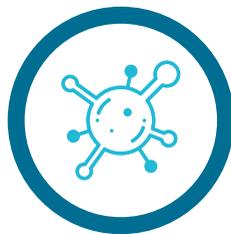
Para el diagnóstico de las infecciones intestinales de origen clostridial (*Clostridium perfringens*) se requiere ligar una porción de intestino afectado y colocarlo en un recipiente estéril para el cultivo bacteriológico. En estas enfermedades es determinante para el diagnóstico la detección de las toxinas. Para esto, se tomarán muestras de materia fecal en un recipiente o bolsa estéril, que serán mantenidas en forma refrigerada hasta su análisis en el laboratorio.

Si se realizara la necropsia de un **feto** abortado, se sugiere el muestreo de contenido abomasal y pulmón, y si se localizara, la placenta, para intentar el cultivo y aislamiento bacteriano. Considerando el potencial zoonótico de muchas de las enfermedades que ocasionan abortos en los bovinos y en otras especies, se sugiere realizar las necropsias en instalaciones que cumplan con las medidas de bioseguridad mínimas, eliminando apropiadamente los restos placentarios y fetales para que no estén en

contacto con otros animales y con humanos. En caso de no contar con un lugar seguro para realizarla, la recomendación es siempre enviar el feto completo para que la necropsia sea realizada en un lugar seguro.

Generalmente no se suelen utilizar muestras de sangre, líquidos o contenidos de cavidades para el aislamiento bacteriano. En el caso de secreciones (abscesos, fístulas), estas deben extraerse con hisopos de algodón estéril que se sumergirán posteriormente en medios de transporte adecuados previamente solicitados al laboratorio, o en solución fisiológica esterilizada otorgándole así las condiciones necesarias para mantener vivos a los gérmenes. También se puede intentar la toma de muestra por punción del absceso con aguja y jeringa, aunque el éxito dependerá de que tan espesa sea la secreción. Considerar siempre la desinfección de la piel con yodo povidona antes de tomar la muestra y si en un mismo animal tenemos abscesos fistulados y no fistulados elegir siempre para el muestreo éstos últimos ya que no presentarán contaminantes.

Ante la incertidumbre sobre la elección de muestras a recolectar durante una necropsia con el objetivo de intentar la identificación de una bacteria, se sugiere comunicarse previamente con el laboratorio más cercano, para solicitar asesoramiento e ir preparado para el momento de muestreo.



Laboratorio de Virología

El diagnóstico de una enfermedad viral se basa en el aislamiento o demostración del virus en forma directa, detección de ácidos nucleicos virales (mediante PCR), o la detección y cuantificación de anticuerpos específicos generados contra el agente (serología). El éxito del aislamiento viral depende mucho de la calidad de la muestra; por lo tanto, el aislamiento viral está relacionada con la calidad de la muestra (autólisis previa, entre otros). La mejor muestra es aquella que obtiene en la etapa inicial de la enfermedad (biopsias, hisopado, sangre), o de un animal enfermo que se eutanasia y se le realiza necropsia, evitando la contaminación post mortem. Las muestras deben ser colectadas en forma aséptica en envases con buen cierre, con las mismas características mencionadas en la sección del laboratorio de Bacteriología. Como la viabilidad viral es crucial para el aislamiento, las muestras deberían llegar al laboratorio antes de la 24 hs de obtenidas, enviándose refrigeradas (no congeladas). En el caso de solicitar la prueba de PCR, las muestras (tejido, sangre o fluidos) pueden congelarse.

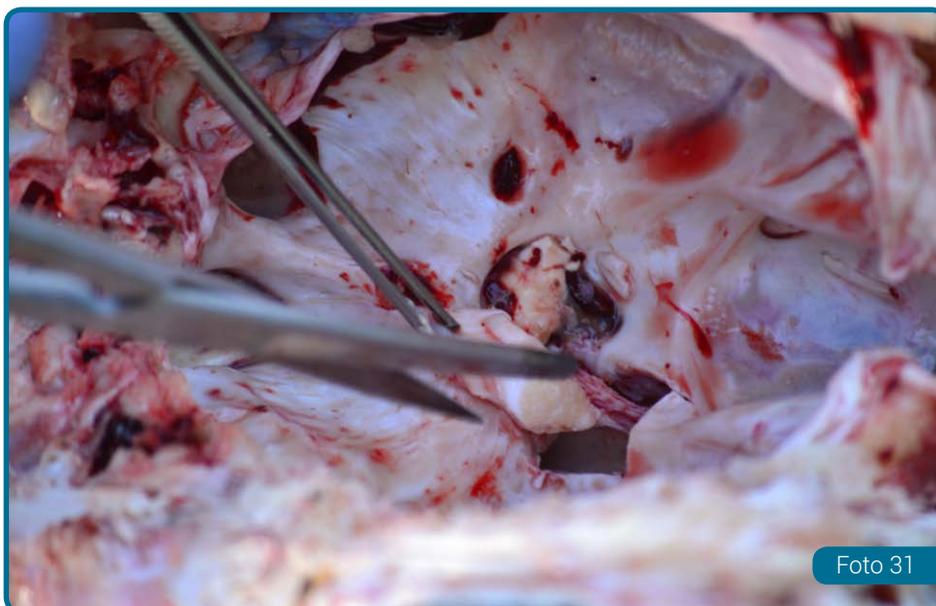


Foto 31

Si el animal, previo a su muerte hubiese presentado signología respiratoria y/u ocular (sospecha de un cuadro de IBR), se podrían recolectar porciones del tejido afectado y/o linfonódulos que lo drenen. En el caso de observarse lesiones en piel y/o membranas mucosas (sospecha de un cuadro de DVB), se recomienda la recolección de los tejidos afectados (intestino, placas de Peyer) y sangre entera. Ante un cuadro neurológico (ej. encefalitis por IBR) se recomienda el envío de tejido encefálico (corteza cerebral) y ganglio del nervio trigémino (Foto 31). Ante un aborto, se pueden tomar muestras de bazo, pulmón y cerebro del feto abortado para intentar aislamiento e identificación viral, o PCR. Si se quisiese realizar el cultivo de muestras de sangre entera, esta se debería tomar con anticoagulantes (EDTA o heparina). Se debe homogenizar bien la sangre con el anticoagulante, pero evitando agitar bruscamente el tubo para que no haya hemólisis.

En zonas endémicas de **Rabia pavesante**, o ante la presentación de un cuadro neurológico compatible, se recomienda el envío completo de la cabeza del animal afectado para descartar este diagnóstico presuntivo.



Laboratorio de Bioquímica clínica

Si se llegaran a extraer muestras de sangre previa a la eutanasia del animal, con el objetivo de ser analizadas en el Laboratorio de Bioquímica, se sugiere que la misma sea obtenida por punción de la vena yugular. Se debe cuidar que la sangre se deslice por las paredes del tubo que la contendrá y no que caiga en él formando espuma lo que provocaría hemólisis y disminución en la cantidad de suero. Se sugiere el empleo de tubos con tapones plásticos (evitar tapones de goma). Una vez obtenida la muestra, el tubo colocado en la gradilla en posición vertical, debe moverse lo menos posible y evitar que se agite. Si la misma contiene anticoagulante el tubo no debe llenarse completamente, para poder mezclarlo con la sangre, tarea que se realizará mediante 4 o 5 inversiones suaves pero sin agitarlo. No se deben congelar o enfriar excesivamente los tubos con sangre entera para evitar su hemólisis.

Las muestras de suero podrán ser utilizadas para la determinación de concentración de diferentes **minerales** (Ca, P, Mg, Cu, entre otros) o para estimar la actividad de diferentes enzimas que nos permitan evaluar **funcionalidad renal** (urea, creatinina, entre otros); **daño muscular** (creatinfosfoquinasa –CPK–); **función hepática** (gamma-GT, GOT, bilirrubina, albúmina y proteínas totales). También se podrían evaluar parámetros que pudieran estar asociados a **parasitosis gastrointestinales** (pepsinógeno, albúmina, proteínas totales y hematocrito).

Ante una sospecha de **desbalance Ca / P** se podrían cuantificar Ca en una muestra de hueso obtenido durante la necropsia (costillas). Ante la sospecha de un cuadro de **hipomagnesemia**, la determinación de Mg en sangre de animales caídos, agónicos o muertos carece de valor diagnóstico; por lo tanto se recomienda el análisis de líquido cefalorraquídeo, orina o humor vítreo.

Ante la sospecha de un cuadro de **hipocupremia** (o, por el contrario, intoxicación con cobre) que amerite la obtención de tejido hepático y/o renal, el mismo deberá enviarse refrigerado.



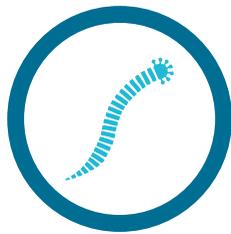
Laboratorio de Toxicología

La información proporcionada ante la sospecha de un cuadro de intoxicación debería ser similar a la anteriormente mencionada para procesos de otra etiología. Pero, ante la sospecha de una intoxicación en particular, se sugiere incluir dentro de la información anamnésica, datos meteorológicos previos al caso y durante el mismo; etiquetas o marbetes del producto químico que se sospechara; y respuesta a los tratamientos de animales enfermos.

Enviar muestras en recipientes separados, limpios, identificados y que puedan congelarse (bolsas plásticas, por ejemplo). No usar ningún preservativo químico. Si esto fuera esencial para algún ensayo específico, recoger un duplicado de la muestra.

En el caso de sospecha de consumo de **plantas tóxicas**, enviar un ejemplar en floración, si es posible, para su identificación. En el caso de necropsias se puede extraer contenido ruminal y/o materia fecal en una bolsa de plástico, para analizar la dieta macroscópicamente o por técnicas histológicas que permiten identificar plantas tóxicas.

Ante la sospecha de una intoxicación con **arsénico**, pueden enviarse muestras de hígado o riñón, contenido ruminal y orina, para cuantificación. Ante una posible intoxicación con **plaguicidas clorados o fosforados** se deberían enviar muestras de tejido adiposo, hígado, riñón, en recipientes de vidrio (no plástico).



Laboratorio de Parasitología

Además de los datos anamnésicos ya especificados previamente, para poder interpretar un resultado del laboratorio de Parasitología, es imprescindible recabar muy buena información respecto a la categoría afectada, ya que en el bovino después de los 9-11 meses de edad, la interpretación de conteos de huevos en materia fecal puede verse afectado por efecto de la inmunidad, sin tener tanta correlación con la parasitosis que pueda estar sufriendo el animal. También es importante mencionar el estado general que presentase el animal, es conveniente recorrer el o los potreros para observar el o los lotes de animales problemas, de esta manera se tiene una mejor visión del conjunto y se puede considerar comparativamente al lote en su conjunto.

Interesan los antecedentes de la alimentación que los animales consumían, como es durante el año y sobre todo desde los 2 a 3 meses previos hasta la fecha de envío, en cuanto a calidad y cantidad del alimento; antecedentes de otras enfermedades tanto infecciosas, carenciales o parasitarias, manejo del rodeo (época de parición de destete fecha de vacunación y de desparasitación). Sobre esto es muy importante conocer la droga y marca del producto que se ha utilizado anteriormente. Las condiciones climáticas que pudieran haber producido alteración en la supervivencia de las larvas en la pastura. A todos estos puntos debemos considerarlos en su conjunto y no por separado ya que todos se interrelacionan.

La necropsia y procesamiento en el laboratorio de animales con **parasitosis gastrointestinal**, brindará información precisa no solo del tipo y número de parásitos presente sino también del estado de desarrollo de la población parasitaria. Cuando se tiene oportunidad de eutanasiar un animal o necropsiar uno recién muerto es conveniente medir el pH del contenido abomasal, con la finalidad de evaluar la funcionalidad de dicho órgano. El pH normal varía entre 1,5 – 2 y en animales muy parasitados entre pH 4-6. La necropsia puede revelar alteraciones morfológicas asociadas a la parasitosis como por ejemplo: edemas en tejido subcutáneo, ascitis, linfonódulos mesentéricos agrandados y edematosos, gastritis con edema de pliegues, enteritis catarral, etc.

Como ya se mencionó previamente, una vez abierta la cavidad abdominal se debe ligar el abomaso a la altura del píloro, y se lo separa del resto del aparato digestivo junto al librillo, en el caso de ovinos y una parte de él en los bovinos, para evitar derrames de contenido. El otro corte se hace inmediatamente detrás de la ligadura en el píloro.

El intestino delgado es separado del mesenterio hasta llegar a la válvula ileocecal. El intestino grueso se separa de la misma manera, descartándose la última parte del recto.

El contenido abomasal e intestinal, debería ser enviado por completo al laboratorio, evitando que se pierda el contenido, lavando cuidadosamente pliegue por pliegue. Si el volumen fuera muy grande para su envío por completo se puede enviar una submuestra del 10% del contenido total y enviarlo al laboratorio (notificando al laboratorio que ya se hizo esa submuestra).

En algunos casos en particular es importante enviar el abomaso completo (ya separado de su contenido) para realizar digestión de la mucosa, donde se alojan los estadios en desarrollo, inmaduros e inhibidos que no se pueden recuperar durante el conteo de parásitos adultos. De esta manera se podrá completar el estudio y caracterizar el estado poblacional de la parasitosis.

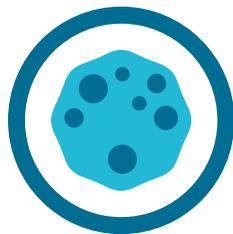
Si se sospechara de una **parasitosis pulmonar**, puede enviarse todo el aparato respiratorio para su evaluación, o consultar al laboratorio de la manera de instauración del método de recuperación de larvas pulmonares (método de Baermann).

Para el diagnóstico de **Fasciola hepatica**, durante la necropsia podrán observarse lesiones típicas en el parénquima hepático (causada por la migración de las formas inmaduras y la presencia de las mismas) y las demás lesiones descritas en la patología. En la fase crónica los ductos biliares encuentran engrosadas, salientes y con calcificaciones con las formas adultas presentes. Se pueden enviar estas formas inmaduras o maduras al laboratorio para su confirmación.

Ante problemas de **coccidiosis**, se pueden buscar los ooquistes en materia fecal y complementarse tomando improntas de intestino en áreas afectadas.

Los nemátodos y trematodos pueden ser colocados en pequeñas cantidades de agua o solución salina para su estudio inmediato. Mientras que los artrópodos se colocarán en frascos vacíos con tapa hermética.

Ante una presentación clínica con sospecha de **hemoparasitosis** (Anaplasmosis o Babesiosis) se sugiere el muestreo previo de sangre para evaluar parasitemia y hematocrito. Si se trata de una necropsia se puede realizar frotis de punta de corazón, bazo, hígado y cerebro. El frotis a partir de la "caña" también es útil cuando el animal ya tiene varias horas de muerto, ya que al cortar tendones de la región se suelen encontrar pequeños vasos sanguíneos sin coagular. En una región donde las enfermedades no son endémicas, una muestra de bazo o coágulo sanguíneo para tratar de identificar Anaplasma por técnicas moleculares es aplicable. Ante la sospecha de Babesiosis, se pueden realizar improntas de sistema nervioso central para tratar de identificar el parásito.



Laboratorio de Patología

La histopatología representa una excelente herramienta para confirmar la presencia de lesiones que ya vimos en la necropsia, o la provocada por algunos agentes que no generan lesiones macroscópicas.

Durante la necropsia, las muestras para histopatología deben ser cortadas con un mínimo de manipuleo y distorsión con cuchillo o bisturí bien afilados. El espesor de la muestra de tejido no debe ser mayor de 10 o 15 mm para lograr que el formol penetre rápidamente y el tejido se fije apropiadamente. En caso de querer enviar muestras más voluminosas de órganos (cerebro, hígado, pulmón, etc.) realizar cortes seriados cada 1-2 cm. aproximadamente para que penetre correctamente el fijador (formol). Se recomienda además tomar muestras de 2 o 3 sectores de cada tejido que incluyan la parte normal y la afectada.

El formol debe prepararse al 10% (1 parte de formol comercial y 9 partes de agua). Las muestras deben sumergirse en un volumen 10 veces mayor de solución de formol bufferado al 10%. Pueden colocarse todas las muestras procedentes.



Recaudos finales

Una vez terminada la necropsia, si se sospechara que el animal estaba sufriendo alguna enfermedad zoonótica (ej.: carbunco, rabia, brucelosis, tuberculosis), se deberá eliminar la res y sus partes mediante metodologías apropiadas para evitar contaminación.

El instrumental deberá ser lavado, enjuagado y desinfectado convenientemente y guardado en orden para las próximas necropsias.

El éxito en el diagnóstico de patologías de los bovinos depende de realizar un adecuado estudio clínico y *post mortem* de los animales en cuestión, además de la toma de muestras de animales afectados o que murieron para poder llevar a cabo análisis de laboratorio. De esta manera se podrá arribar a un diagnóstico final para poder recomendar herramientas tendientes a evitar una nueva presentación o al menos, reducir su incidencia.

La realización sistemática de una necropsia, el reconocimiento e interpretación de lesiones y la adecuada recolección de muestras para procesarlas en laboratorios especializados se constituyen en el pilar del diagnóstico de una enfermedad.

En esta guía se presenta la experiencia en diagnóstico de enfermedades, con énfasis en necropsia y recolección de muestras para laboratorios, desarrollada por el Grupo de Sanidad Animal de la EEA Balcarce que lleva a cabo estas actividades desde hace más de 50 años, habiendo procesado más de 50.000 casos, de distintas especies animales, remitidos de casi todas las provincias del país.



Secretaría
de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación