

EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO POR DENTRO

Raúl Cabrera^{1*}, Marta Chodilef², Carmelina Silva³

¹ INTA EEA Bariloche, Área de Producción Animal, Laboratorio de Parasitología

² INTA EEA Bariloche, Área de Producción Animal, Laboratorio de Serología

³ INTA EEA Bariloche, Área de Producción Animal, Laboratorio de Histopatología

* cabrera.raul@inta.gob.ar

En los laboratorios del Grupo de Salud Animal de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, se realiza una gran variedad de análisis con la finalidad de poder llegar al diagnóstico correcto de las enfermedades infecciosas, parasitarias y tóxico-metabólicas, que se producen principalmente en ovinos, caprinos y bovinos de la región Patagónica.

A inicios de la década del '90, el Grupo de Salud Animal (GSA) de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche (EEA Bariloche), puso en marcha el Sistema Integrado Regional de Salud Animal (SIRSA), en el cual intervienen los veterinarios de la actividad privada y estatal con la finalidad de mejorar el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades del ganado.

Uno de los objetivos del SIRSA es brindar un servicio de análisis de laboratorio a partir de muestras tomadas y remitidas por los veterinarios de la región. Los técnicos auxiliares especializados realizan los análisis de diagnóstico, cuyos resultados son luego interpretados e informados por los veterinarios del GSA. Si bien el servicio tiene como destinatario final a todos los productores ganaderos de la Patagonia, el mismo se brinda exclusivamente a través de los veterinarios.

Dada la diversidad de enfermedades y situaciones de brote que se dan en el campo, recomendamos siempre estar en comunicación con los Laboratorios para acordar los posibles análisis que se pueden realizar, qué tipo de muestras se deben recolectar, y cuáles son las formas correctas de tomar, acondicionar y remitir dichas muestras.

Una vez que las muestras llegan a los laboratorios, los datos son cargados en un sistema informático denominado DataLab, que permite registrar toda la información sobre las muestras y los resultados. Una vez ingresado el caso en el sistema, se analizan las muestras de suero, materia fecal, tejidos, etc., con la técnica que corresponde, según la enfermedad que se sospecha.

El procesamiento de cada muestra se realiza respetando el orden de llegada de las mismas al laboratorio. En todos los casos, se entrega un informe final con los resultados de los análisis al veterinario que remitió las muestras.

A continuación, se describirá brevemente cómo trabajamos en tres de los cinco laboratorios que posee el GSA.

1- Laboratorio de Serología

En el laboratorio de Serología trabajamos principalmente con muestras de sueros de ovinos, bovinos y caprinos, y ocasionalmente muestras de otras especies. El objetivo es la medición de anticuerpos en las muestras de suero contra diferentes enfermedades causadas por bacterias, virus y protozoarios.

Las muestras enviadas a este laboratorio, se deben remitir junto con la planilla de campo que contiene los datos del propietario y del establecimiento, el número de RENSPA (Registro Nacional Sanitario de Productores Agropecuarios), los datos del veterinario actuante, y los datos de todos los animales de los que se envían las muestras. En el caso de brucelosis bovina, se debe aclarar si el animal fue vacunado y la fecha.

Para obtener una buena muestra de suero, las muestras de sangre obtenidas en el campo deben ser recolectadas en tubos limpios de plástico o de vidrio, y se debe usar una aguja por animal. Una vez obtenida la muestra, debe reposar por una noche, a una temperatura de 25 a 30 °C, y al día siguiente se debe extraer el suero y trasvasarlo a un tubo tipo Eppendorf, el cual se congela a -20 °C hasta el momento del envío al laboratorio.

Como el laboratorio está acreditado y trabaja bajo normas de calidad y de buenas prácticas dictadas por el SENASA (Laboratorio de RED 185), sólo se aceptan muestras de suero sanguíneo de los animales a analizar, las cuales deben cumplir con estándares de calidad, de lo contrario no se procesan. Con esto se asegura la calidad del resultado.

Cuando se solicitan análisis de brucelosis, si son ovinos se procede a realizar directamente un enzimo-inmunoensayo llamado "ELISA" mientras que, si son bovinos caprinos o cerdos, se realiza en primera instancia la prueba de Antígeno Baferado en Placa llamada "BPA" y a todos los sueros que dan positivos, se le hace una prueba que es confirmatoria, la Fluorescencia Polarizada llamada "FPA". En el caso de enfermedades como Toxoplasmosis o Neosporosis se realiza la técnica de Inmunofluorescencia, en la cual se trabaja con los sueros sobre un

portaobjetos y luego se observan en el microscopio de Inmunofluorescencia en un cuarto oscuro. La misma técnica se usa para el diagnóstico de Campylobacteriosis, salvo que en el caso de los toros, en vez de suero usamos líquido del raspaje prepucial.

La demora en la obtención del resultado depende de la cantidad de muestras, por ejemplo, de 100 a 200 muestras se completan en la semana; si son 2000 o 3000 muestras puede demorar 2 o 3 semanas.



Figura 1. A: Preparación de los sueros para su análisis. B: Muestras de suero en tubos Eppendorf. C: Placa de ELISA para Brucelosis con sueros de carneros positivos (pocillos grises) y negativos (pocillos blancos).

IMPORTANTE: Como las muestras de suero a temperatura ambiente se alteran, deben ser enviadas congeladas, en caja de telgopor con abundante cantidad de refrigerantes, a fin de que no se corte la cadena de frío.

2- Laboratorio de Histopatología

En el laboratorio de Histopatología se procesan muestras de órganos como hígado, pulmón, cerebro, bazo, músculo, intestino entre otros, de ovinos, caprinos, bovinos, porcinos, guanacos, ciervos, gallinas, etc. El objetivo del laboratorio

es detectar lesiones microscópicas en los tejidos, producidas por las diferentes enfermedades que afectan al ganado. De esa manera se puede orientar o arribar a la identificación de la enfermedad que está causando muertes o pérdidas en la producción ganadera.

La recolección, conservación y envío de muestras es muy importante para poder lograr un buen trabajo dentro del laboratorio de histopatología. La recolección tiene que ser hecha al poco tiempo de la muerte del animal. Al realizar la necropsia (apertura del cadáver), se evalúan los diferentes órganos de los cuales se tomarán muestras de tejido sano y lesionado de 5 mm de espesor, y se colocarán en frascos con Formol, este líquido es un fijador que permite conservar los órganos para su estudio posterior.

Las muestras deben enviarse con los datos detallados de cada animal y especie al cual pertenecen, los datos del campo donde ocurre la enfermedad o mortandad, los signos clínicos que el veterinario observó en los animales enfermos, el informe de necropsia donde el colega comentará el tipo y forma de las lesiones que observó en los órganos del animal necropsiado, brindando así al menos un diagnóstico presuntivo.

Las muestras de órganos se procesan para lograr cortes finos, para ello se deshidratan en alcohol y se embeben en parafina, luego se cortan con un micrótopo que es parecido a una cortadora de fiambres, que realiza cortes de 5 micrones de espesor. Luego esos cortes se colocan sobre un portaobjeto, posteriormente se procesan para poder reconocer mejor las células de los tejidos y sus características bajo el microscopio, mediante la técnica de tinción.

La tinción más utilizada en histopatología es una combinación de hematoxilina y eosina (H&E). La hematoxilina tiñe los núcleos de las células de azul, mientras que la eosina tiñe el citoplasma y el tejido extracelular de color rosa. Hay otras técnicas que se utilizan en nuestro laboratorio como por ejemplo la tinción de Gram que se utiliza para teñir selectivamente las células y diferenciar bacterias.

Desde que las muestras llegan al laboratorio hasta que están disponibles para ser evaluadas bajo el microscopio y poder realizar un informe, se demora alrededor de dos semanas.

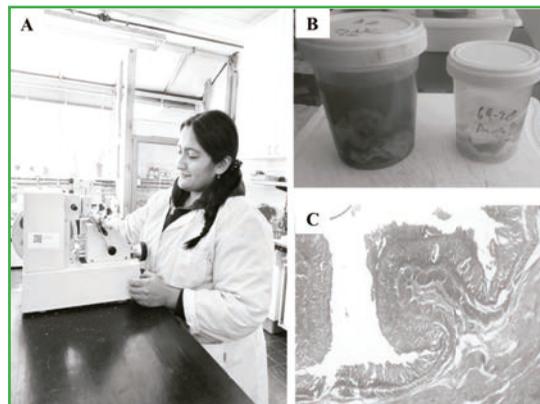


Figura 2. A: Realización de cortes en el micrótopo. B: Tejidos en formol. C: Corte histológico del intestino delgado de un ternero.

3- Laboratorio de Parasitología

En el laboratorio de Parasitología se analizan muestras de ovinos, bovinos, caprinos y equinos, con el fin de identificar parásitos internos y externos.

Los análisis que se realizan mayormente en el laboratorio son a partir de muestras de materia fecal, tomadas directamente del recto del animal en bolsas de polietileno e identificadas con el número de caravana de cada animal. Se solicita tomar un

mínimo de 15 muestras individuales por especie y categoría de animales que compartan el mismo potrero. Con estas muestras se realizan los siguientes análisis:

- Conteo de huevos de parásitos gastrointestinales por gramo de materia fecal (HPG) a través de la Técnica de Flotación, para estimar la cantidad o carga de parásitos que tienen los animales, de manera individual. Los resultados se agrupan por lotes y por categorías.
- Sedimentación - Filtración, en la cual se identifican en las muestras, huevos de *Fasciola hepática*, también conocido como Saguaipé.

Para un diagnóstico más profundo y preciso, con las mismas muestras se puede realizar un pool de todas ellas, siendo de animales de la misma especie y categoría, y se procesan realizando la Técnica de Cultivo de Larvas por un tiempo de 14 días, en estufa a 25 °C. El día N° 15, se realiza la extracción de las larvas e identificación de las distintas especies de parásitos gastrointestinales presentes.

En el laboratorio también se identifican los distintos parásitos externos que pueden afectar a los animales, principalmente melófagos, piojos masticadores o chupadores, y ácaros de sarna. Esta identificación se realiza a partir de muestras de lana, pelo o raspajes de piel de los animales afectados.

El tiempo que demoran los resultados depende del análisis requerido y de la cantidad de muestras a analizar, por ejemplo: el cultivo de larvas demora entre 2 y 3 semanas, mientras que la identificación de parásitos externos se realiza en el día.

Para lograr el objetivo final de darle un buen servicio al productor a través de su veterinario, se solicita a los veterinarios realizar un muestreo correcto, y remitir

las muestras al laboratorio identificando el establecimiento, la fecha de toma de las muestras y los análisis solicitados.

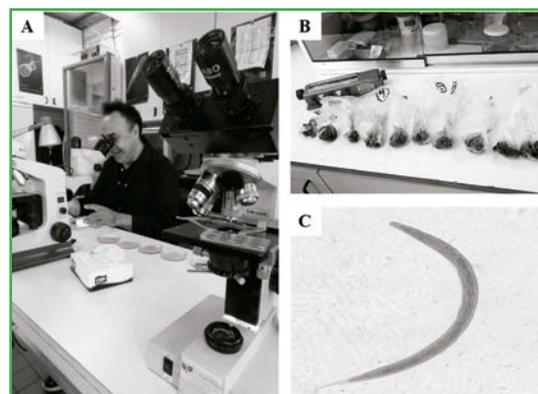


Figura 3. A: Identificación de género y especie de las larvas bajo la lupa. B: Muestras de materia fecal. C: Larva de parásito gastrointestinal de un ovino.

Requerimientos para los envíos a los Laboratorios del Grupo de Salud Animal

Para lograr un correcto análisis de las muestras remitidas, éstas deben ser acondicionadas en cajas de telgopor, con refrigerantes si corresponde (muestras de sueros o materia fecal), e identificar la caja como se detalla a continuación:

INTA Bariloche
Grupo de Salud Animal
Modesta Victoria 4450
Bariloche (8400) – Prov. de Río Negro

Como se mencionó anteriormente, solicitamos contactarse con el GSA antes de enviar las muestras con el fin de acordar su recepción. Una vez que se despache la encomienda, les solicitamos que nos envíen el número de guía y la empresa de transporte.

Es recomendable despachar las encomiendas de lunes a miércoles para evitar que queden en los depósitos de las empresas de transporte durante el fin de semana, con el riesgo de perder muestras refrigeradas. Todos estos recaudos son necesarios a fin de preservar las muestras, obtener buenos resultados y lograr un correcto diagnóstico, para tomar decisiones con respecto al tratamiento de los animales en rodeos, majadas o hatos.

Contactos:

Tel. INTA Bariloche: 294-4422731

Serología e Histopatología: Dr. Agustín Martínez martinez.agustin@inta.gob.ar

Parasitología: Dra. Marcela Larroza larroza.marcela@inta.gob.ar

