# Ensayo

*Nombre del Alumno: Gabriela Montserrat Calvo Vázquez*

*Nombre del tema: Investigación De Pruebas De Laboratorio En Bovinos*

*Parcial: III*

*Nombre de la Materia: Métodos, Instrumentos Y Técnicas De Diagnostico Veterinario*

*Nombre del profesor: Gonzalo Rodríguez Rodríguez*

*Nombre de la Licenciatura: Medicina Veterinaria Y Zootecnia*

*Cuatrimestre: 3*

## INTRODUCCIÓN

Las pruebas de laboratorio en bovinos son herramientas fundamentales para el diagnostico, control y prevención de enfermedades que afectan a este tipo de ganado. A traves de diversos analisis clinicos y microbiologicos, es posible detectar infecciones, evaluar el estado sanitario y garantizar la calidad de la producción ganadera. Estas pruebas permiten tomar desiciones informadas para el manejo sanitario, contribuyendo a la salud del animal, la productividad y la seguridad alimentaria.

## PRUEBAS DE LABORATORIO EN BOVINOS

El diagnóstico de enfermedades en los animales, es esencial para realizar medidas terapéuticas y preventivas que mejoren la salud del hato, y de este modo se optimice y aumente la producción animal. Por ello es necesario la obtención y remisión de los diferentes tipos de muestras, a los centros y laboratorios de diagnóstico. Para la correcta determinación de las enfermedades, es importante que las muestras sean representativas del o los padecimientos y lesiones que presenten los animales. Al obtener y manejar de forma correcta alguna muestra, se estará favoreciendo la calidad del diagnóstico y por ende la identificación certera, de la enfermedad problema. El valor de las pruebas de laboratorio es importante ya que ayudan a identificar y orientar al clínico para emitir un diagnóstico.

Es importante que las muestras para las pruebas de laboratorio, reúnan las siguientes condiciones

: 1.- Material lo más fresco posible.

2.- Material para estudio microbiológico, enviarse en forma estéril.

3.- Rotular cada muestra, en forma independiente, para que sea fácil de identificar.

4.- Se debe de especificar detalladamente el análisis que se requiere.

5.- Debe anexarse a las muestras de cada caso la siguiente información:

- Nombre, dirección y teléfono del clínico

- Nombre, teléfono y dirección del dueño.

- Fecha y hora de la toma de la muestra.

– Especie animal, sexo y raza.

- Número de animales en el hato.

- Número de animales afectados.

- Tiempo de evolución de la enfermedad.

- Signos que ha presentado.

- Datos sobre morbilidad y mortalidad en el hato.

- Vacunaciones y tratamientos.

- Hallazgos en necropsias de animales que padecieron el mismo brote.

- Casos similares en la zona.

- Diagnóstico presuntivo.

- Fecha y hora de muerte.

- Material enviado al laboratorio, fijador conservador usado.

- Especificaciones claras relativas al tipo de análisis que se requiere.

**PRUEBAS UTILIZADA EN TUBERCULOSIS**

- Prueba de INTERFERÓN GAMMA

En esta prueba, la liberación de un interferón gamma (IFN-γ) de linfocina se mide en un sistema de cultivo con sangre completa. La prueba se basa en la liberación de IFN-γ desde linfocitos sensibilizados durante un periodo de incubación de 16–24 horas con antígeno específico (tuberculina PPD) (Wood et al., 1990). En esta prueba se utiliza la comparación de la producción de IFN-γ tras una estimulación con PPD aviar y con PPD bovina. La detección de IFN-γ se lleva a cabo con un ELISA en sándwich que utiliza dos anticuerpos monoclonales contra interferón gamma bovino. Se recomienda que las muestras de sangre sean transportadas al laboratorio y que se lleve a cabo la prueba cuanto antes, pero no después del día de la toma de sangre (Coad et al., 2007; Ryan et al., 2000). En algunas zonas, sobre todo donde la “inespecificidad” es prevalente, han surgido algunas preocupaciones relativas a la exactitud. No obstante, dada la capacidad de la prueba del IFN-γ de detectar infecciones tempranas, el uso de ambas pruebas en paralelo permite la detección de un mayor número de animales infectados antes de que se conviertan en una fuente de infección para otros animales, así como en una fuente de contaminación.

- **Prueba de la proliferación de linfocitos**

Este tipo de prueba in-vitro compara la reactividad de los linfocitos de la sangre periférica a la tuberculina PPD (PPD-B) con la que presentan frente a una PD de Mycobacterium avium (PPD-A). La prueba puede llevarse a cabo con sangre completa (Buddle et al., 2001) o con linfocitos purificados de muestras de sangre periférica (Griffin et al., 1994). Estas pruebas intentan aumentar la especificidad de la prueba eliminando la respuesta de los linfocitos a antígenos “inespecíficos” o que presenten reactividad cruzada, asociada a especies no patógenas de micobacterias a las cuales el animal podría haber estado

expuesto. Los resultados se suelen analizar como el valor obtenido en la respuesta a la PPD-B menos el valor obtenido en la respuesta a la PPD-A. El valor B-A debe ser superior a un punto de corte que puede cambiarse con el fin de maximizar o bien la especificidad o bien la sensibilidad del diagnóstico. La prueba tiene valor científico, pero no se utiliza para el diagnóstico sistemático porque es lenta y la logística y la ejecución en el laboratorio son complicadas (requiere largos tiempos de incubación y la utilización de nucleótidos radiactivos). Como ocurre con la prueba del IFN-γ, la prueba de la proliferación de linfocitos debe llevarse a cabo poco después de haber recogido la sangre. La prueba podría ser útil en animales salvajes y de zoo. Se ha observado que un análisis de sangre formado por pruebas de transformación de linfocitos y ELISA tiene una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la infección por M. bovis en los ciervos (Griffin et al., 1994). La prueba es relativamente cara y todavía no se ha sometido a comparaciones interlaboratoriales.

- **Cultivo**

Para procesar muestras para el cultivo, en primer lugar se homogeneiza el tejido mediante un mortero, un digestor o una mezcladora, y a continuación se descontamina con detergente (como cloruro de hexadecilpiridinio [HPC] al 0,375–0,75%), un álcali (hidróxido de sodio al 2–4%) o un ácido (ácido oxálico al 5%). La mezcla de álcali o ácido se agita durante 10–15 minutos a temperatura ambiente y a continuación se neutraliza. La neutralización no es necesaria cuando se utiliza HPC. La suspensión se centrifuga, se desecha el sobrenadante y el sedimento se utiliza para el cultivo y el examen microscópico. Se recomienda que, como mínimo, se realice un cultivo de muestras compuestas de ganglios linfáticos de la cabeza y el tórax cuando no se detecten lesiones visibles en los animales positivos a la prueba de la tuberculina o del interferón en el examen post-mortem.

## PRUEBAS UTILIZADASD EN BRUCELOSIS

La Brucelosis bovina generalmente es causada por Brucella abortus, que es una bacteria Gram negativa con un lipopolisacárido (LPS) fuertemente inmunodominante, el que junto con la capacidad de sobrevivir en el interior de células fagocíticas constituyen sus principales factores de virulencia.

- **La prueba de tarjeta se realizará:**

Con muestras de suero sanguíneo no hemolizado.

- Con antígeno autorizado por la Secretaría que reúna las siguientes características:

a) Elaborado con la cepa 1119-3 de Brucella abortus.

b) Teñido con rosa de bengala en ácido láctico.

c) pH de 3.65 (± 0.05)

d) Concentración celular del 8% para bovinos y del 3% para caprinos y ovinos.

Los resultados de la prueba de tarjeta arrojarán sólo dos clasificaciones: positivos y negativos dependiendo de la presencia o ausencia de aglutinación, según sea el caso.

- **La prueba de rivanol se debe realizar sólo en suero de bovino:**

- Con sueros no hemolizados, positivos a la prueba de tarjeta.

- Con antígeno autorizado por la Secretaría y con reactivo de rivanol (lactato de 2 etoxi 6,9 diamino acridina).

- El antígeno debe ser elaborado con la cepa 1119-3 de Brucella abortus y debe reunir las siguientes características:

a) Teñido con una mezcla de verde brillante y cristal violeta

b) pH 5.8 a 6.2

c) Concentración celular 4%

Los resultados se clasificarán en sueros positivos y negativos. Se consideran positivos, todos aquellos sueros de animales que presenten reacción de aglutinación completa en cualquiera de las diluciones, desde 1/25 a 1/400. En el caso de ganado vacunado, la aglutinación completa en una dilución mayor o igual a 1/50 será una prueba positiva.

- **La prueba de fijación del complemento**

Se debe realizar con sueros no hemolizados que hayan resultado positivos a las pruebas de tarjeta y/o rivanol.

- **La prueba de anillo en leche**

Se realizará como prueba de vigilancia epidemiológica. Los resultados deben confirmarse con pruebas serológicas. Esta prueba se debe practicar en muestras de leche cruda, fluida y fresca realizándose con antígeno autorizado por la Secretaría reuniendo las siguientes características:

a) Teñido con hematoxilina

b) pH entre 4.0 y 4.3

c) Concentración celular de 4% 7

En el caso de bovinos, los resultados se interpretarán como negativos en ausencia de anillo teñido y positivos los que presenten anillo teñido en la superficie; en el caso de caprinos, las reacciones positivas se manifiestan por la formación de un botón coloreado en el fondo del tubo, o cuando se forman grumos coloreados en la columna de leche, cuando la reacción es negativa no cambia el aspecto de la columna, tiñiéndose totalmente. El diagnóstico de B. ovis, se realizará con la prueba de Inmunodifusión doble en gel con muestras de suero sanguíneo no hemolizado de Bovinos

- **TOMA DE MUESTRA**

La toma y recolección de sangre, se debe hacer en un tubo de plástico al vacio, tamaño de 16x100mm, con un volumen de drenado de 10ml, para suero, sin anticoagulante, estéril y desechable; y con aguja para toma de sangre la cual debe ser estéril, desechable, no toxica de la siguiente medida 21x1.5” (0.8x38mm), y con ayuda de un capuchón.

## TOMA DE MUESTRA EN MASTITIS

- **Taza probadora**

Examine los primeros chorros de leche de cada ordeño sobre un recipiente (strip cup) de fondo oscuro (Figura 3). Los coágulos, escamas, hilos, materia fibrosa, secreciones acuosas, o color anormal indican que la leche no es normal y que hay problemas probables. En la mastitis crónica la leche no tiene apariencia visible anormal en todos los ordeños

- **Prueba de California para Mastitis (CMT)**

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Morresey, 1999; Radostits, 2000; Medina y Montaldo, 2003; Erskine, 2001; Bedolla, 2004b). Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Blowey y Edmonson, 1995; Bedolla, 2004b).

- **Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT)**

La Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT), fue diseñada para el uso en el laboratorio, y es utilizada para estimar el contenido de células somáticas de muestras de leche fresca mezclada o leche de tanques de enfriamiento, así como para muestreo de vacas individuales. Se utiliza una solución similar a la que se emplea con la prueba de California (CMT), pero en contraste con esta última, los resultados se miden cuantitativamente dependiendo de la viscosidad, no cualitativamente o de estimarla a ojo de buen cubero como en la CMT (Fernández, 1997; NMC, 1999; Bedolla, 2004b). La técnica consiste en utilizar un tubo graduado en milímetros en donde se depositan 2 ml de leche y una mezcla de 2 ml de reactivo para CMT con agua destilada (1:1) ambas a temperatura ambiente. Enseguida se agita durante 10 segundos, horizontalmente y de izquierda a derecha. Se deja reposar 10 segundos y posteriormente se invierten los tubos durante otros 10 segundos.

- **Pruebas bacteriológicas Los cultivos en laboratorio**

Sson necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior.

Procedimiento de siembra, incubación e identificación Al extraer muestras se deben descartar dos o tres chorros de leche y se deben asegurar que las tetas estén bien limpias y que se han frotado los extremos de las mismas durante algunos segundos con un algodón húmedo con 70% de alcohol, antes y después de recoger las muestras en un recipiente esterilizado se deben congelar hasta entregarlas al laboratorio. Los procedimientos bacteriológicos son esenciales para la selección de los agentes terapéuticos que tienen especificidad para el germen presente

- **Método Somaticell**

El somaticell puede ser utilizado para analizar la leche proveniente de una o muchas vacas, se puede utilizar para el diagnóstico de la mastitis subclinica, o para realizar el programa de manejo de todo el hato durante un mes. En el caso de las muestras individuales de leche, se determina la probablidad de la presencia de mastitis, tambien se analiza en la leche de tanque, la calidad de leche del hato, con ello se puede estimar el porcentaje de animales con infeccion de la glandula mamaria. Se utiliza un Kit con un procedimiento similar al de la prueba de Wisconsin

**TOMAS DE MUESTRA EN RABIA**

La toma de muestras de laboratorio para el diagnóstico de rabia en bovinos se realiza con el encéfalo y médula espinal de animales que hayan muerto con signos nerviosos característicos de la enfermedad. Es fundamental tomar las muestras de forma segura y enviarlas adecuadamente refrigeradas para su análisis en un laboratorio.

Procedimiento:

Muestreo:

- Se debe tomar el encéfalo y la médula espinal de bovinos que hayan fallecido con signos nerviosos compatibles con rabia.
- Idealmente, la muestra debe incluir el tronco encefálico, pie del hipocampo, tálamo, corteza cerebral, cerebelo y bulbo raquídeo.
- El área de muestreo debe ser aislada y desinfectable para evitar la contaminación.

La prueba más utilizada para el diagnóstico de rabia es la inmunofluorescencia directa (FAT). El análisis se realiza en el encéfalo, buscando la presencia del virus rábico.

La toma de muestras debe ser realizada por personal capacitado, idealmente con esquema de vacunación contra la rabia. El virus de la rabia es susceptible a desinfectantes, desecación y calor, por lo que se debe evitar la exposición

## CONCLUSIÓN

Es muy importante impartir las pruebas ya que estas pruebas contribuyen a mejorar la salud animal, proteger la salud animal, proteger la salud pública y asegurar la calidad, también a la implementación sistemática de pruebas diagnosticas especificas permite detectar casos clínicos y subclínicos, facilitando acciones oportunas como el tratamiento, aislamiento o sacrificio selectivo.

BIBLIOGRAFIA

-https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/12-mastitis.pdf

-https://osiap.org.mx/senasica/sites/default/files/Brucelosis.-%20Manual%20de%20Procedimientos.pdf

-https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/3-04-06-bovine-tb-1.pdf

https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/Manuales/22_CLINICA_BOVINOS.pdf