



PAULINA ELIZABETH SOLIS PASQUETT

TERCER PARCIAL

METODOS, INSTRUMENTOS Y TECNICAS DE DIAGNOSTICO VETERINARIO

RODRIGUEZ RODRIGUEZ GONZALO

LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TERCER CUATRIMESTRE

COMITAN DE DOMINGUEZ CHIAPAS, 05 DE JULIO 2025

Las enfermedades infecciosas en bovinos representan una amenaza significativa para la salud animal, la producción agropecuaria y la seguridad alimentaria. Entre las más relevantes se encuentran la tuberculosis, brucelosis, mastitis y rabia, enfermedades que no solo afectan la productividad sino que también pueden ser zoonóticas, es decir, transmitirse a los humanos. Por ello, el diagnóstico temprano y preciso mediante pruebas de laboratorio es crucial para el control, prevención y erradicación de estas patologías. Este documento profundiza en las pruebas diagnósticas utilizadas para estas enfermedades, explicando su fundamento, la obtención de muestras, su aplicación práctica y los procedimientos técnicos involucrados.

Tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina es causada por *Mycobacterium bovis*, un bacilo ácido-alcohol resistente que provoca una infección crónica y granulomatosa, principalmente en pulmones y ganglios linfáticos. El diagnóstico se basa principalmente en la detección de una respuesta inmunitaria celular frente a antígenos específicos del bacilo. La prueba estándar es la prueba tuberculínica intradérmica, que consiste en la inyección subcutánea de un derivado proteico purificado (PPD) de tuberculina bovina y la medición de la inflamación local 72 horas después. Esta inflamación es una reacción de hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T, que indica exposición o infección. Para mejorar la especificidad, se puede usar la prueba comparativa intradérmica, inyectando simultáneamente tuberculina bovina y aviar en diferentes sitios para diferenciar reacciones causadas por micobacterias ambientales de la infección por *M. bovis*. Además, existen pruebas sanguíneas como el ensayo de liberación del interferón gamma (IGRA), que detecta la producción de interferón gamma por linfocitos sensibilizados a antígenos de *M. bovis* tras incubación in vitro, ofreciendo mayor sensibilidad y rapidez.

- **Aplicación**

Se utiliza en programas nacionales de vigilancia y control de tuberculosis bovina, tanto en campo como en laboratorios especializados. La prueba tuberculínica se realiza en el ganado vivo para detectar animales infectados y evitar la diseminación.

- **Obtención de muestras**

- Para la prueba tuberculínica, no se extrae muestra sanguínea; se aplica tuberculina intradérmica en la piel del cuello o pliegue caudal de la cola.
- Para IGRA, se toma sangre anticoagulada que debe procesarse en laboratorio en menos de 24-30 horas para incubación con antígenos.
- Para confirmación definitiva, se requieren muestras post-mortem de tejidos afectados (ganglios linfáticos, pulmón, bazo, hígado) para cultivo bacteriano y pruebas moleculares.

- **Procedimiento**

- Prueba tuberculínica: Se mide el grosor de la piel antes y 72 horas después de la inyección. Un aumento significativo indica reacción positiva.
- IGRA: Se incuban linfocitos sanguíneos con antígenos específicos y se mide interferón gamma mediante ELISA.

- Cultivo bacteriano: Se siembran tejidos en medios selectivos como Lowenstein-Jensen o sistemas líquidos (BACTEC-MGIT) para aislar *M. bovis*, proceso que puede tardar hasta 8 semanas.
- PCR y técnicas moleculares: Se utilizan para detección rápida y confirmación, así como para estudios epidemiológicos mediante espigotipado.

Brucelosis bovina

La brucelosis bovina es causada principalmente por *Brucella abortus*, una bacteria intracelular que induce una respuesta humoral detectable mediante pruebas serológicas. Estas pruebas buscan anticuerpos específicos contra antígenos de la bacteria, especialmente contra el lipopolisacárido de su pared celular.

- **Aplicación**
Se emplea en programas de control y erradicación, ya que la brucelosis provoca abortos, infertilidad y pérdidas económicas, además de ser zoonótica.
- **Obtención de muestras**
 - Suero sanguíneo obtenido por venopunción.
 - Leche, útil para pruebas no invasivas en vacas lactantes.
 - Muestras de tejidos abortados (placenta, líquido estomacal fetal, pulmón, bazo) para diagnóstico bacteriológico.
- **Procedimiento**
 - Prueba de Rosa de Bengala (RBT): Es una prueba rápida de aglutinación en suero que detecta anticuerpos IgG e IgM. Es muy sensible y utilizada para tamizaje.
 - Prueba del Anillo en Leche (Milk Ring Test): Detecta anticuerpos en leche, útil para monitoreo en hatos lecheros.
 - Pruebas confirmatorias: Como aglutinación en tubo, fijación del complemento y ELISA, que aumentan la especificidad.
 - Cultivo bacteriano: Se realiza en muestras abortadas o tejidos, aunque es laborioso y requiere bioseguridad.
 - PCR: Para detección rápida y confirmación molecular.

Mastitis

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria causada por agentes bacterianos (como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*), que afecta la calidad y cantidad de leche. El diagnóstico se basa en la detección de inflamación y bacterias en la leche.

- **Aplicación**

Es fundamental en la producción lechera para garantizar la salud de las ubres y la inocuidad de la leche.

- Obtención de muestras
- Leche obtenida directamente de cada cuarto mamario, preferentemente antes del ordeño y con técnicas asépticas para evitar contaminación.

- **Procedimiento**

- Recuento de células somáticas (CCS): Detecta el número de leucocitos en la leche, indicador indirecto de inflamación. Se puede realizar mediante contadores automáticos o pruebas rápidas en campo.
- Cultivo bacteriológico: Para identificar el agente causal, se siembra la leche en medios específicos y se realiza identificación bacteriana.
- Pruebas rápidas: Como el California Mastitis Test (CMT), que detecta cambios en la viscosidad de la leche asociados a inflamación.

Rabia

La rabia es una enfermedad viral causada por un virus neurotrópico de la familia *Rhabdoviridae*, que afecta el sistema nervioso central. El diagnóstico requiere la detección del virus o sus antígenos en tejidos nerviosos.

- **Aplicación**

Se utiliza en casos sospechosos de rabia en bovinos y otros animales, para confirmar la enfermedad y tomar medidas sanitarias.

Obtención de muestras

- Tejidos nerviosos, principalmente cerebro, obtenidos post-mortem.

- **Procedimiento**

- Prueba de inmunofluorescencia directa (DFA): Detecta antígenos virales en cortes de tejido cerebral mediante anticuerpos marcados con fluorocromos. Es el método de referencia.

- Histopatología: Identificación de cuerpos de Negri en neuronas.
- Pruebas moleculares (PCR): Para detección rápida y confirmación del genoma viral.
- No existen pruebas serológicas de rutina para bovinos debido a la naturaleza aguda y fatal de la infección.

Protocolos específicos para la obtención de muestras en bovinos

1. Protocolo para obtención de muestras sanguíneas (para tuberculosis, brucelosis y otras pruebas serológicas)

Objetivo: Obtener muestras de sangre de calidad para análisis serológicos y pruebas de interferón gamma.

Materiales:

- Agujas estériles (18-20 G)
- Jeringas o sistema vacutainer con tubos adecuados:
- Tubos sin anticoagulante (tapa roja) para suero.
- Tubos con heparina de litio (tapa verde) para plasma (IGRA).
- Alcohol al 70% para desinfección.
- Guantes desechables.
- Contenedor para muestras refrigeradas (caja isotérmica con gel refrigerante).

Procedimiento

- Identificación del animal: Verificar y registrar el número de identificación oficial (DIIO).
- Selección de vena: Preferentemente vena coccígea (pliegue de la cola) o vena yugular.
- Preparación: Desinfectar el sitio con alcohol al 70% y dejar secar.

Extracción

- Para suero: Extraer al menos 5 ml de sangre en tubo sin anticoagulante.
- Para plasma (IGRA): Extraer al menos 5 ml en tubo con heparina de litio.

Manejo de la muestra

Para suero: Tapar el tubo, dejar reposar a temperatura ambiente (18-25°C) en ángulo de 45° para que la sangre coagule y se separe el suero. Luego refrigerar (2-8°C).

Para plasma: Mezclar suavemente invirtiendo el tubo 5 veces para homogenizar y evitar lisis celular. Mantener a temperatura ambiente (no refrigerar).

Transporte: Enviar al laboratorio lo antes posible, idealmente dentro de 24-28 horas. Mantener la cadena de frío para suero y temperatura ambiente para plasma.

Precauciones: Evitar contaminación, agitación brusca y congelación de muestras sin procesar.

2. Protocolo para toma de muestras de leche (para brucelosis y mastitis)

Objetivo: Obtener leche representativa para pruebas serológicas y bacteriológicas.

Materiales

- Frascos estériles con tapa.
- Alcohol al 70%.
- Guantes desechables.
- Etiquetas para identificación.
- Toallas o gasas estériles.

Procedimiento

- Identificación del animal: Confirmar número de identificación.
- Preparación: Limpiar y desinfectar el pezón con alcohol al 70%.

Obtención

- Desechar los primeros chorros de leche.
- Colectar aproximadamente 10-20 ml de leche en frasco estéril, sin tocar el interior del envase con el pezón.

Manejo: Tapar el frasco inmediatamente y etiquetar correctamente.

Transporte: Mantener refrigerado (2-8°C) y enviar al laboratorio en menos de 24 horas.

Precauciones: Evitar contaminación externa para asegurar resultados confiables.

3. Protocolo para toma de muestras de tejidos (para tuberculosis y rabia)

Objetivo: Obtener muestras post-mortem para diagnóstico bacteriológico, histopatológico y molecular.

Materiales

- Bisturí y tijeras estériles.
- Frascos o recipientes estériles con cierre hermético.
- Formaldehído al 10% para fijación (en caso de histopatología).
- Guantes desechables.
- Etiquetas y formularios de envío.
- Bolsas para bioseguridad.

Procedimiento

Selección de tejidos:

- Para tuberculosis: Ganglios linfáticos (mediastínicos, pulmonares, mesentéricos), pulmón, bazo, hígado.
- Para rabia: Cerebro (corteza, hipocampo, cerebelo).

Extracción

- Realizar necropsia con asepsia.
- Cortar muestras de aproximadamente 1-2 cm³.

Fijación

- Para histopatología, colocar una porción en formaldehído al 10% (proporción 1:10 tejido:formaldehído).
- Para cultivo y PCR, conservar muestras frescas en recipientes estériles sin fijar.

Etiquetado: Identificar claramente cada muestra con datos del animal, fecha y tipo de muestra.

Transporte: Enviar al laboratorio en refrigeración (2-8°C) lo antes posible, preferentemente en menos de 48 horas.

Precauciones: Evitar contaminación cruzada y fugas de fluidos. Usar equipo de protección personal para evitar riesgos zoonóticos.

4. Protocolo para toma de muestras para la prueba tuberculínica intradérmica
Objetivo: Aplicar tuberculina para detectar infección por *Mycobacterium bovis* mediante hipersensibilidad retardada.

Materiales

- Tuberculina bovina y aviar (según protocolo).
- Jeringas y agujas estériles (26-27 G).
- Alcohol al 70%.
- Regla o calibre para medir grosor de la piel.
- Guantes desechables.

Procedimiento

- Selección del sitio: Parte media del cuello o pliegue caudal de la cola (preferentemente cuello por mayor sensibilidad).
- Preparación: Limpiar el sitio con alcohol al 70%.
- Medición inicial: Medir y registrar el grosor de la piel en el sitio de inyección.
- Inyección: Inyectar 0.1 ml de tuberculina intradérmica, formando un pequeño habón visible.
- Lectura: A las 72 horas, medir nuevamente el grosor de la piel en el sitio de inyección.
- Interpretación: Un aumento significativo indica una reacción positiva.
- Registro: Documentar resultados y seguimiento.

La combinación de pruebas diagnósticas confiables y protocolos rigurosos para la obtención de muestras es esencial para un manejo sanitario integral en bovinos, garantizando diagnósticos precisos, intervenciones oportunas y la sostenibilidad del sector ganadero en beneficio de la sociedad en general. Además, la implementación de estas pruebas y protocolos contribuye a fortalecer los programas nacionales de vigilancia epidemiológica y control sanitario, permitiendo detectar precozmente casos positivos, delimitar focos de infección y aplicar medidas de control y erradicación efectivas. Esto no solo mejora la productividad ganadera y reduce pérdidas económicas, sino que también protege al ser humano de enfermedades zoonóticas, reforzando la seguridad alimentaria y la salud pública