

Manejo de Muestras Conservación, transporte y envío a los Centros de Diagnóstico

Por: M.V. Mirian Catari, Jefe de Laboratorio de Diagnóstico Grupo La Caridad, c.a. - Telf.: 014 443.11.70

Los avances en la producción avícola a nivel mundial se han debido, básicamente, al control y prevención de las enfermedades aviares. La principal razón para aislar e identificar un agente patógeno es para determinar la causa de una enfermedad. En este sentido, es necesario que el manejo de las muestras, se realice de manera tal que prevenga la inactivación del germen y provea protección contra la contaminación cruzada.

Metodología del muestreo

Muestras para estudio bacteriológico

Este puede estar orientado hacia la confirmación de una enfermedad bacteriana en aves clínicamente enfermas y la detección de una infección en aves portadoras y en otras fuentes (muestras ambientales) para indicar en forma indirecta la infección en un lote. La muestra de órganos y tejidos a nivel de granja, debe ser tomada en aves recién muertas o sacrificadas, debido a que la contaminación bacteriana se puede extender a otros órganos y tejidos después de la muerte del animal. Cuando los cambios post-mortem son obvios, la muestra de médula ósea del fémur y tibia puede ser útil. Si la muestra está representada por órganos y tejidos, estas deben ser procesadas inmediatamente después de su colección y no más de 24 horas siempre y cuando estas sean refrigeradas. Deben ser tomadas por separado y tomar muestras de órganos y tejidos que reflejen los signos o síntomas. En caso de que los síntomas o lesiones no nos orienten hacia una enfermedad específica, es importante tomar muestras del mayor número de órganos-tejidos para aumentar las posibilidades de aislamiento.

Además del ave viva, sus órganos o tejidos también existen otras fuentes para muestreo bacteriológico, que nos pueden indicar en forma indirecta la infección en un lote y el grado de exposición a una infección como son las muestras ambientales, gaseados-hisopados de piso, paredes, bebederos, comederos de los galpones, muestras de cama, nidal, agua y muestreo de superficies. Estos deben ser recolectados con mucho cuidado de la forma más aséptica posible y por separado, para evitar contaminación cruzada. Debido a que la tasa de sobrevivencia de algunas bacterias en el campo es variable en muestras ambientales (cama, nido, heces,...) éstas pueden ser procesadas dentro de los dos días de su colección, siempre que sean refrigeradas.

En caso de muestras para estudio *virológico*, es preferible enviar aves vivas al laboratorio de diagnóstico. Es importante conocer cuáles son los sitios donde los virus se replican (sistema respiratorio, digestivo, reproductor, nervioso...).

En caso de que no se puedan enviar aves vivas al laboratorio, las muestras de órganos o tejidos deben ser tomadas por separado y colocadas en una solución de antibiótico (10.000 U.I/ml Penicilina, 0,25 mg Streptomina/ml) para suprimir el crecimiento bacteriano y preservar la viabilidad del virus. Estas muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio refrigeradas. Si no se pueden enviar inmediatamente después de su colección, otra alternativa es congelarlas (-70°C).

Muestras para estudio serológico

Las técnicas serológicas pueden completar los intentos de aislamientos, especialmente cuando estos han dado resultados negativos. Para que un laboratorio pueda emitir reportes precisos sobre el estado serológico de un lote, es necesario que la muestra sea representativa y de buena calidad. La recolección de la muestra de sangre debe hacerse de la forma más aséptica posible. Si no pueden ser remitidas dentro de las 24 horas se deben sellar y refrigerar para evitar la deshidratación y el crecimiento de gérmenes contaminantes. Se recomienda tomar

entre 25-30 muestras en cada lote, no menos de 12 muestras para que sea representativa desde el punto de vista estadístico. Se puede tomar una muestra de 1,5 ml de sangre, se coloca en un recipiente de vidrio o plástico, se deja reposar a temperatura ambiente por 15 minutos para que se desprenda el suero del coágulo.

Muestra para estudio parasitológico

En el caso de los parásitos externos, existen varias técnicas para la toma de muestras. Se puede llevar al laboratorio el ave completa y colocarla en una bolsa plástica cerrada a la cual se le han añadido algodones con vinagre, éter o cloroformo, al extraer el ave los parásitos quedan en la bolsa.

Se pueden tomar muestras del ave viva, con un pincel se van barriendo, en caso de piojos, y se van colocando en alcohol 70º para fijarlos y luego identificarlos.

En caso de los Acaros y las pulgas, se pueden tomar muestras ambientales, debajo de la cama, de los niales ...donde se pueden encontrar formas evolutivas del parásito (huevos, larvas, ninfas). Se pueden colocar en alcohol 70º, fijar y luego identificar la especie en el laboratorio por un ENTOMOLOGO.

La Coccidiosis aviar es una de las enfermedades parasitarias más importantes de la Industria Avícola a nivel mundial, causada por el género *Eimeria*, el cual es altamente específico del huésped y tiene un alto poder de transmisión y reproducción. En este caso, la muestra puede ser un promedio de (5) aves que presenten síntomas y se envíen al laboratorio. También, pueden retirar el intestino, sellarlo por ambas puntas y enviarlo refrigerado al laboratorio. Se deben tomar muestras de alimento cuando las aves reciben drogas anticoccidiales como profilaxia para evaluar si el brote está asociado por omisión accidental de la droga, dosis subóptima o si hay resistencia a la droga. La muestra de alimento debe ser la que se usó 5-10 días antes del brote. También se pueden tomar muestras de cama, para determinar la cantidad de oocistos presentes y evaluar el riesgo de infección (>10.000/g. riesgo de un brote). Es importante asociar los contajes en cama, con score de lesiones y el nivel de droga en el alimento.

Muestra de tejido para estudio histopatológico

Los estudios histopatológicos pueden completar los intentos de aislamiento, cuando estos han dado resultados negativos. Para una buena preservación, las muestras de tejido deben ser fijadas inmediatamente después de la muerte del ave, especialmente los tejidos de cerebro y riñón los cuales se deterioran muy rápido, los cortes de tejido deben ser pequeños para que penetre el fijador, lo más recomendable es fijar con una solución de formalina al 10%. Cualquier tejido que permanezca en formalina por mucho tiempo, comienza a endurecerse. Si la muestra no puede ser procesada 48 horas después de haber sido fijada, se recomienda transferirla a una solución de alcohol 70º.

Lineamientos del muestreo

1. La muestra debe ser representativa del lote. En caso de que la muestra sea de aves, se recomienda tomar un promedio de 5-10 aves, donde se incluyan aves aparentemente sanas y aves clínicamente afectadas o enfermas. Si la muestra está representada por órganos o tejidos, tomar aquellos que estén afectados o que reflejen los signos clínicos. En caso de que los signos y lesiones no orienten hacia una enfermedad específica, es importante tomar el mayor número de muestras. Es necesario conocer cuáles son los órganos o tejidos apropiados para intentar el aislamiento para cada una de las enfermedades.

2. La muestra debe ser de buena calidad por lo que es necesario que el manejo de las mismas (envío, almacenamiento y transporte) se realice de

manera tal que prevenga la inactivación del germen y provea protección contra la contaminación cruzada.

3. Las muestras deben ser recolectadas de la forma más aséptica posible, usando para ésto guantes estériles, recolectores e instrumentos estériles (pinzas, tijeras, bisturí...), las muestras deben ser recolectadas por separado.

4. Las aves afectadas por una enfermedad deben ser llevadas a un Centro de Diagnóstico tan temprano como sea posible cuando se presentan los primeros síntomas o se sospeche de un problema sanitario, muchas veces las infecciones bacterianas de las aves ocurren durante o después de una infección viral complicando el cuadro, siendo éstas infecciones secundarias.

5. Toda muestra remitida a un laboratorio de diagnóstico debe ir bien identificada.

- Nombre de la empresa
- Identificación del lote
- Edad, raza, sexo
- Historia clínica
- Análisis requerido.

Fallas en el intento de aislamiento

El aislamiento de un agente a partir de un tejido enfermo no necesariamente indica que este agente es el responsable directo de la enfermedad. Este puede estar presente en forma secundaria, seguido de la acción de otro agente patógeno primario. Muchas veces las infecciones bacterianas de las aves ocurren durante o después de una infección viral complicando el cuadro. Muchas veces, en aves que son enviadas al laboratorio la enfermedad ha progresado hasta un punto donde el virus ya no está presente en gran cantidad, sin embargo se observan síntomas y lesiones y sólo se aíslan los patógenos secundarios. Es por esto que las aves afectadas por una enfermedad deben ser llevadas al Laboratorio tan pronto como se presenten los primeros síntomas o se sospeche de un problema sanitario, para aumentar las posibilidades de aislamiento del agente patógeno primario.

Algunas veces el agente infeccioso puede no ser aislado de un ave enferma. Por lo tanto, es prudente tomar muestras de sangre de las aves afectadas en el curso agudo de la enfermedad y otra más tarde durante el periodo de convalecencia, para observar si hubo o no seroconversión, teniendo en cuenta que las pruebas serológicas deben ir acompañadas de los intentos de aislamiento más no tomar su lugar.

La aplicación de antibióticos en el alimento o en el agua de bebida, pueden eliminar el agente infeccioso y los intentos de aislamiento pueden ser negativos. Esto es importante en caso de infecciones bacterianas, donde éstos pueden actuar como agentes patógenos primarios o secundarios.

Las condiciones de manejo, ambiente y estrés juegan un papel muy importante en la inducción y complicación de la enfermedad. En ausencia de un agente patógeno después de un examen cuidadoso, es necesario observar las causas no infecciosas, tanto el veterinario clínico como el Laboratorio de Diagnóstico deben sumar esfuerzos para identificar la causa.

Las enfermedades nutricionales, algunas veces, se pueden confundir con una enfermedad infecciosa. De tal forma que, cuando no se aíslan patógenos y se presentan síntomas de una deficiencia, es recomendable consultar con el especialista en nutrición aviar.

La Interacción entre el veterinario clínico, nutricionista, genetistas, encargados de granjas y el Laboratorio de Diagnóstico es esencial para identificar la (s) causa (s) de un problema y su solución.