

Procesos respiratorios en rumiantes: toma de muestras

Para controlar los problemas respiratorios hace falta conocer la etiología de los mismos, lo que permitirá modificar el manejo, los programas vacunales (con vacunas y/o autovacunas) o el tratamiento.

R. Baselga e I. Albizu.
Exopol. Autovacunas y Diagnóstico.
San Mateo (Zaragoza).

Normalmente se puede hacer un diagnóstico presuntivo de la etiología de los problemas a partir de los signos clínicos, edad y origen de los animales, situación vacunal, epidemiología del proceso, datos de la necropsia y fundamentalmente a partir del historial de la granja, ya que los problemas respiratorios tienden a repetirse dentro de una explotación. Sin embargo la experiencia dice que en rumiantes el diagnóstico en campo es difícil, y que una gran mayoría de los aciertos corresponden a que determinados patógenos tienen una incidencia mayor en algunas edades o a que siempre aparecen como complicantes.

En casi todos los casos, los problemas respiratorios son una enfermedad multifactorial, ya que normalmente no se puede hablar de una sola causa o un solo patógeno. Además, existen grandes variaciones en los síntomas clínicos producidos por un mismo patógeno o en la edad de aparición de los primeros síntomas. Esto es debido fundamentalmente a las diferencias en el estado inmunitario de los animales y al manejo de las explotaciones. Se pue-

den encontrar patógenos normalmente asociados con adultos en animales jóvenes y a la inversa. Por otro lado, es normal identificar simultáneamente varios patógenos, o que unos agentes enmascaren a otros (por ejemplo, los virus son habitualmente enmascarados por bacterias). Considerándolo todo, para realizar un diagnóstico correcto hay que acudir al laboratorio. Sin olvidar que es el veterinario quien conoce la explotación y puede ponderar todos los datos para hacer el diagnóstico final, aunque el laboratorio oriente y aconseje. En este trabajo se orienta en la toma de muestras en procesos respiratorios y se comentan algunos de los resultados que se pueden obtener.

Etiología

Corderos y cabritos

Como causas infecciosas aparecen fundamentalmente *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella trehalosi*, *Mycoplasma ovipneumoniae*, *M. agalactiae* y *M. arginini*. También se puede encontrar virus PI-3 y Border, *Histophilus somni*, *Chlamydophila* y *Coxiella* (Fiebre Q), y



Foto 1. Pulmón ovino con lesiones de neumonía atípica. Se observan lóbulos apicales y medios con importante consolidación de color rojo. Por cultivo bacteriológico se aisló *Mannheimia haemolytica* y *Mycoplasma spp.*

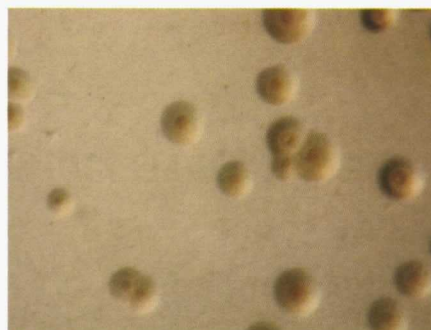


Foto 2. Cepa de *Mycoplasma spp* en agar Hayflick. Procedo de un pulmón ovino con neumonía atípica. Obsérvese la morfología típica en "huevo frito", con un centro elevado respecto al resto de la colonia, en la imagen de color más claro.

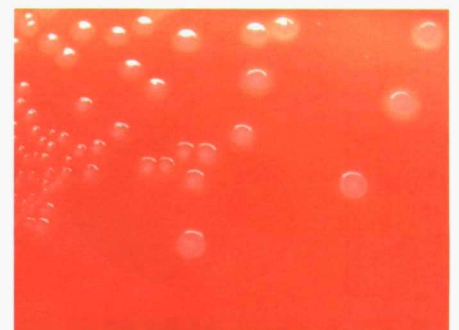


Foto 3. Cepa de *Mannheimia haemolytica* en agar sangre tras 24 horas de incubación a 37 °C. Las colonias, de aspecto mucoso, presentan hemólisis tipo beta.

no es raro aislar *Arcanobacterium pyogenes* o *Corynebacterium pseudotuberculosis*, probablemente como oportunistas.

Terberos

Normalmente siempre se encuentra *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* y alguno o varios de los virus BVD, PI-3, IBR, Adenovirus y especialmente el BRSV. Además hay que considerar *Histophilus somni*, aunque en España es muy poco prevalente. Los Coronavirus respiratorios y las neumonías por *Chlamydomphila* tampoco se estudian habitualmente a pesar de que sí parecen ser importantes.

En rumiantes en general nadie discute el papel de *M. haemolytica* y la evidencia también parece clara para *Pasteurella*, aunque *P. trehalosi* sea poco frecuente. Sin embargo, a pesar del importante papel que se atribuye a *Mycoplasma bovis* y a los virus en terneros, en pequeños rumiantes no >>>

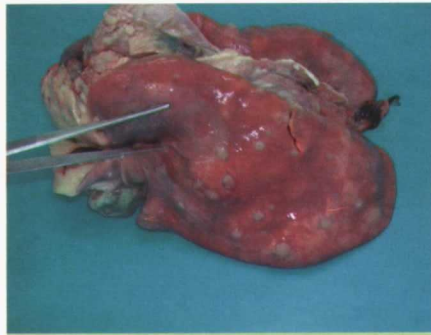


Foto 4. Abscesos múltiples en pulmón de ovino adulto repartidos por todo el órgano. Adherencias entre lóbulos pulmonares. Mediante cultivo se aisló *Corynebacterium pseudotuberculosis*.



Foto 5. Cepa de *Corynebacterium pseudotuberculosis* en agar sangre incubado 48 h a 37 °C en aerobiosis. Aislado en ovino. Las colonias son blancas, de aspecto seco, que se fragmentan al retirarla y con beta hemólisis justo debajo de la colonia.

“Existen grandes variaciones en los síntomas clínicos producidos por un mismo patógeno o en la edad de aparición”

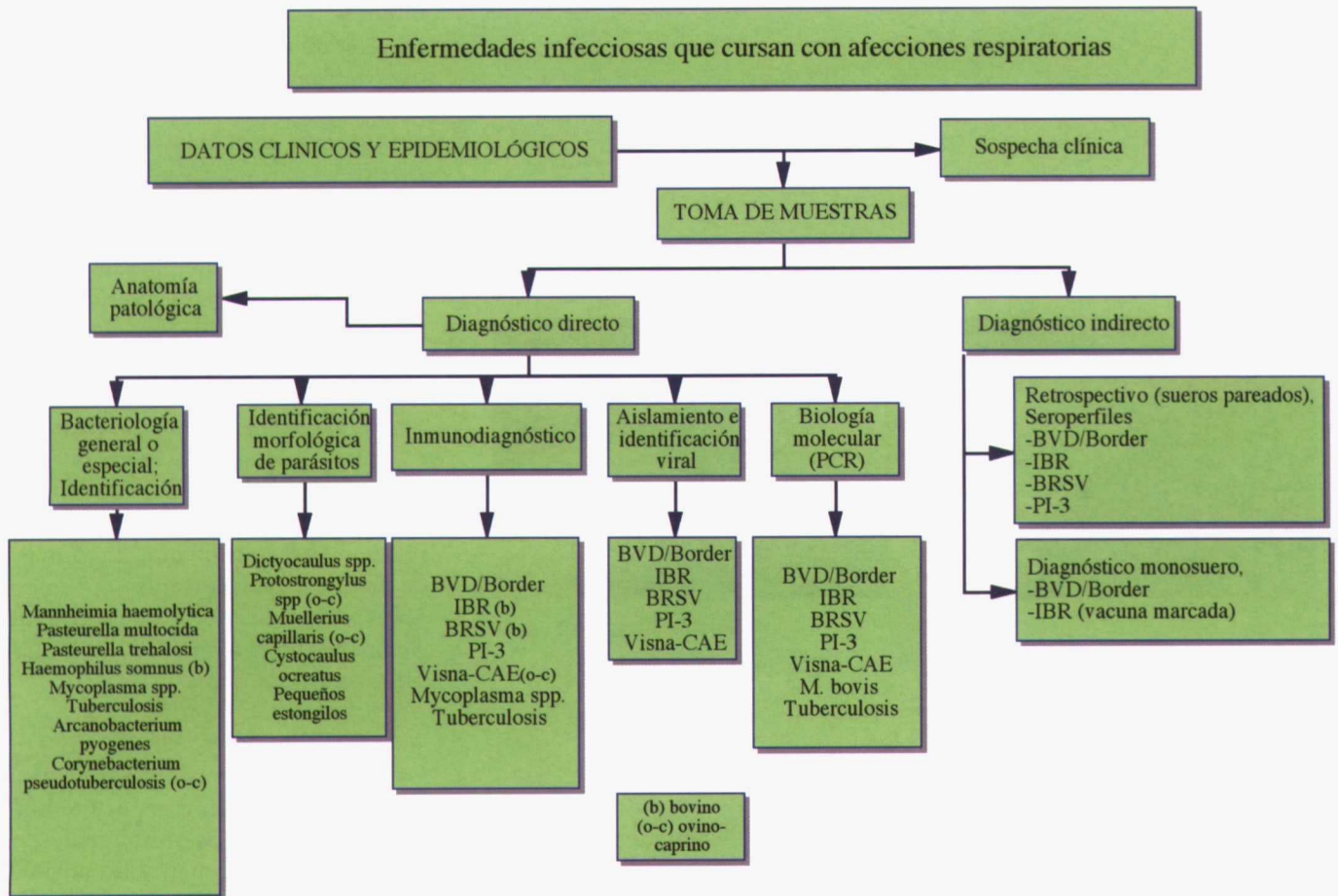


Figura 1. Enfermedades infecciosas que cursan con afecciones respiratorias.

Extracción de lavados traqueobronquiales en ovino y caprino

Esta técnica fue traída a España para su uso en porcino por Tests and Trials y posteriormente fue adaptada para su uso en ovino y caprino.

La idea es extraer muestras pulmonares de animales sin necesidad de sacrificarlos y permite tomar muestras seriadas de un mismo animal.

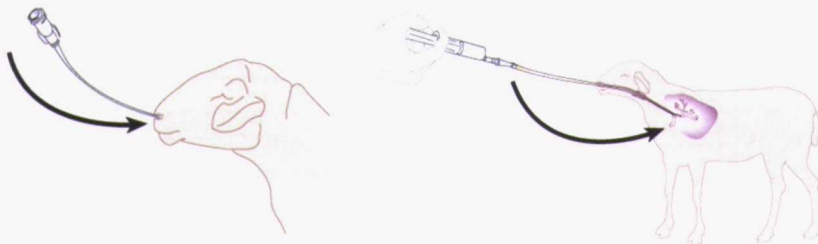
La técnica del lavado traqueobronquial en cerdos fue descrita por primera vez, en la estación de Ploufragan (Francia), por Pommier y Abiven en 1993 con el fin de poder trabajar con *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos vivos, derivada de una técnica semejante en medicina humana. Ante un brote de enfermedad respiratoria es frecuente encontrar animales muertos en las granjas de los que podemos enviar sin ningún problema muestras de pulmones al laboratorio. Este tipo de muestras tienen el inconveniente de que, bien porque ese determinado animal no ha muerto por la patología que afecta mayoritariamente al resto del grupo, bien por contaminación, nos puede llevar a diagnósticos erróneos. Además, permite muestrear al mismo animal varias veces.

Aunque en un principio esta técnica puede parecer complicada, es muy sencilla y está al alcance de cualquier profesional debido a la simplicidad de su metodología y a la facilidad de conseguir los útiles necesarios.

Puntos conflictivos

El animal debe estar bien sujeto con la cabeza ligeramente elevada en línea recta con el cuello. En caso contrario resulta muy difícil introducir la sonda. A medida que se introduce la sonda es una buena medida inyectar algo de suero para lubricar los senos nasales y la tráquea para asegurarnos de que la sonda no se dobla, lo que es bastante frecuente. Si una vez introducida no se puede introducir el suero, hay que extraer parcialmente la sonda.

Exopol suministra las sondas a cualquiera que lo solicite.



Fuente: Tests and Trials SL

queda clara la importancia de estos patógenos.

Reposición

Durante su crecimiento, los animales de reposición están adquiriendo inmunidad frente a los patógenos propios de la explotación, y aunque en el laboratorio se sigue evidenciando la pre-

sencia de virus y micoplasmas, generalmente no producen patología clínica en estos animales. De hecho es frecuente que las lesiones pulmonares por micoplasmas desaparezcan en estos animales. Por el contrario, aunque también adquieren resistencia a *Mannheimia* y *Pasteurella*, estos son los patógenos más frecuentes, y es normal aislar bacterias más normales en problemas crónicos de animales adultos como *C. pseudotuberculosis* o *A. pyogenes*. En algunas explotaciones se encuentran parásitos pulmonares cuando las pautas de desparasitación no son correctas.

Adultos

En animales adultos *Pasteurella* y *Mannheimia* claramente han dejado de ser un problema, aunque ocasionalmente se aíslan. En pequeños rumiantes aparecen problemas de curso crónico como Adenomatosis, Lentivirus (Visna/CAE), Tuberculosis (especialmente en caprino), Pseudotuberculosis (*C. pseudotuberculosis*), neumonías verminosas, y abscesos por *A. pyogenes*. Estos últimos se consideran patógenos oportunistas que a través de heridas producen septicemias, acabando frecuentemente en el pulmón. Sin embargo, existen rebaños con criterios de limpieza correctos que tienen una alta morbilidad por estos patógenos. En bovino, es relativamente frecuente encontrar Tuberculosis y nematodos pulmonares.

Toma de datos

Siempre se debería tomar los datos clínicos de cualquier proceso para comparar los resultados del laboratorio con las características observadas, el resultado del tratamiento, los cambios de manejo y la evolución en el tiempo. Un archivo escrito y documentado siempre es mucho más útil que la simple memoria.

Técnicas diagnósticas

La toma de muestras debe ser orientada por el laboratorio, porque ninguno cubre todas las posibilidades, ni emplean necesariamente las mismas técnicas. Se han puesto a punto y se han publicado muchas técnicas diferentes para muchos patógenos, sin

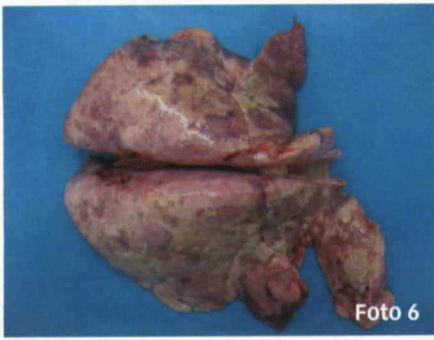


Foto 6



Foto 7

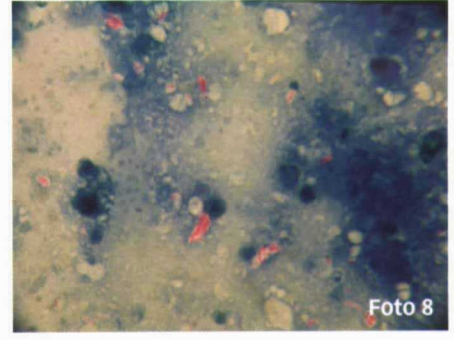


Foto 8

Foto 6 y 7. Pulmón de cabra con Tuberculosis (compatible, el diagnóstico definitivo lo debe hacer un laboratorio oficial). Zonas irregulares de consolidación que a la sección presentaban cavernas con material purulento/caseoso. Los ganglios bronquiales y mediastínicos presentaban amplias zonas de necrosis. Microscópicamente, las lesiones se correspondían con una neumonía y linfadenitis granulomatosa con necrosis y células gigantes características de Tuberculosis. Asimismo, se observan zonas de consolidación marrónácea en áreas craneoventrales de las que se aisló *Pasteurella multocida*.

Foto 8. Tinción de Ziehl Neelsen en la que se observan multitud de bacilos ácido-alcohol resistentes, teñidos de color rojo-fucsia sobre fondo verde. Los bacilos se identificaron mediante inmunoperoxidasa como *Mycobacterium avium paratuberculosis*. La tinción se realizó sobre una impronta de la mucosa de la válvula ileocecal de bovino adulto. Observación en microscopía de campo claro 1000X.

embargo la gran mayoría no son comerciales. Por ejemplo, muchos PCR se realizan a partir de "primers" preparados en el mismo laboratorio. La Figura 1 incluye las técnicas habitualmente disponibles para los pató-

genos implicados en procesos respiratorios de rumiantes.

En las técnicas directas se aíslan o identifican el patógeno o alguno de sus componentes. En las indirectas detectamos la respuesta (celular o hu- >>

SOMMET
de l'ÉLEVAGE

1^{ra} cita europea de los profesionales de la ganadería

1 150 Expositores
75 000 Visitantes
1 800 Animales

7-8-9

de Octubre de 2009

Clermont-Ferrand, FRANCIA

www.sommet-elevage.fr

E-mail: contact@sommet-elevage.fr - Tel: (+33)(0)473 28 95 13 - Fax: (+33)(0)473 28 95 15



Foto 9. Tumor intranasal ovino. Se diagnosticaron dos casos en la misma explotación. Autor: J. M. Sánchez-Murillo. Laboratorio Sanidad Animal (Badajoz).



Foto 10. Lóbulos apicales de un pulmón ovino adulto que muestra una importante neumonía fibrino-purulenta. La superficie pulmonar se encuentra recubierta de una gruesa capa de fibrina. El parénquima pulmonar está consolidado, de color rojo intenso y consistencia dura, y presenta abscesos de tamaño variable formados por tejido necrótico y pus. De la muestra enviada se aisló por cultivo bacteriológico *Pasteurella trehalosi* y *Mycoplasma* spp.

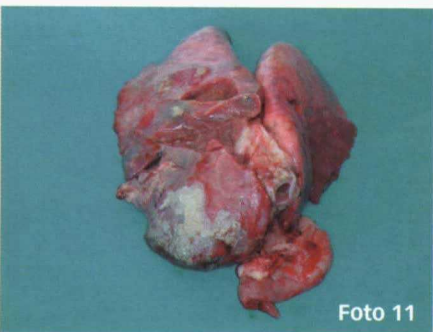


Foto 11

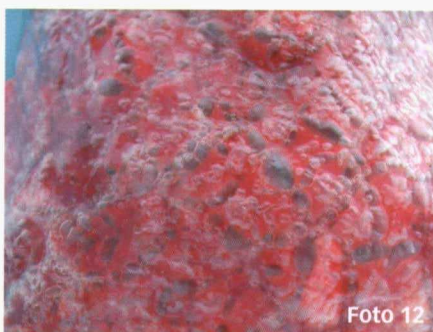


Foto 12

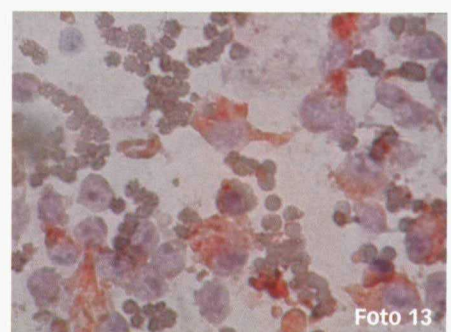


Foto 13

Foto 11. Pulmón caprino donde se observan áreas de diferente coloración (blanquecinas, grises, rojas) y consistencia aumentada. También se observa exudado fibrinoso sobre la superficie pleural. Se detectó *Mycoplasma capricolum* y *Mycoplasma mycoides mycoides* LC mediante inmunoperoxidasa empleando anticuerpos policlonales (PHLS London Aarhus Collection). Por cultivo se aisló *Mycoplasma*, *Pasteurella trehalosi* y *Arcanobacterium pyogenes*, posiblemente como oportunista que coloniza lesiones previas. Ejemplo claro de neumonía por causa multifactorial.

Foto 12. Fragmento de pulmón de un bovino de 6 meses de edad. Se observa enfisema generalizado con presencia de bolsas y burbujas de gas bajo la superficie pleural y en los septos lobulillares. Por cultivo bacteriológico no se obtuvo crecimiento. Mediante inmunocitoquímica se detectó Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV).

Foto 13. BRSV. Células procedentes de un pulmón de un ternero de 4 meses afectado de BRSV. Marcación mediante inmunoperoxidasa indirecta con un anticuerpo monoclonal que detecta una proteína nuclear de 42-44 kDa. Contraste Hematoxilina de Mayer. Observación en campo claro 100X. Las células positivas se ven de color rojizo. El BRSV infecta linfocitos y neumocitos.

moral, anticuerpos) del organismo frente al patógeno. Las técnicas directas comprenden el cultivo microbiológico, la identificación morfológica de los parásitos, el inmunodiagnóstico (inmunofluorescencia, inmunoperoxidasa, etc.), el aislamiento viral y las técnicas de biología molecular entre las que destaca el PCR. Lógicamente, ni el aislamiento viral, ni muchas veces el PCR, son técnicas de rutina.

En problemas respiratorios de pequeños rumiantes los diagnósticos indirectos tienen poco interés porque, a diferencia de otras especies, no existen técnicas comerciales. En bovino sí se puede hacer serología frente a los virus, y se pueden emplear tanto los perfiles serológicos como los sueros pareados para el diagnóstico, aunque sólo en el caso del BVD y con algunas vacunas de IBR se pueden distinguir respuestas vacunales y de infección.

Toma de muestras

Como en otras especies animales, se pueden detectar muchos patógenos en vías respiratorias altas, pero para realmente estar seguros de la etiología del problema hay que trabajar con pulmón o con lavados traqueobronquiales.

Como siempre, la mejor muestra serían varios animales enfermos con síntomas agudos, no tratados, y con menos de 24 horas desde la presentación del cuadro. Se está trabajando con

gran éxito con lavados traqueobronquiales, introduciendo una sonda por la nariz. En rumiantes lo más normal es tomar muestras de tejidos tras la necropsia e hisopos traqueales y pulmonares. Por supuesto, de los animales muertos también se puede obtener mucha información, aunque es muy frecuente la contaminación. Las muestras de órganos deben enviarse refrigeradas, en bolsas individuales e identificadas. Los animales muertos enteros al tener un volumen tan grande es muy difícil enfriarlos y se autolisan muy rápidamente, por lo que se intentará no enviar este tipo de muestras. Lo mismo sucede con los órganos grandes no refrigerados. Para la detección de agentes por técnicas inmunodiagnósticas o PCR, las muestras pueden ser congeladas.

Es importante enviar siempre que sea posible, por su tamaño, el pulmón entero con traquea y ganglios ya que los patógenos no se distribuyen uniformemente. Cuando no sea posible hay que enviar fragmentos grandes de distintas zonas del pulmón.

Si no se solicita anatomía patológica, para el análisis de muchos patógenos (bacterias, virus y parásitos) se puede muestrear los órganos necropsiados con hisopos que evidentemente son mucho más fáciles de enviar.

En el caso de que se envíen muestras para histopatología se deben to-



Foto 14. Ternero de cebo con una bronconeumonía fibrinonecrotica caracterizada por consolidación abigarrada que afecta a los lóbulos craneoventrales y parte de los diafragmáticos. En microbiología se aislaron cultivos masivos de *Mannheimia haemolytica* e *Histophilus somni*, detectándose también *Mycoplasma bovis*. No se detectaron virus (BVD, IBR, BRSV, PI-3 o Adenovirus) mediante inmunoperoxidasa.

mar varios fragmentos de pequeño tamaño fijados con formalina al 10% de distintas partes del pulmón y por supuesto de las lesiones que puedan aparecer. Si existen lesiones macroscópi-

cas es necesario enviar tejido lesionado de transición y aparentemente sano.

Para el diagnóstico indirecto basado en la detección de anticuerpos es suficiente con enviar sangre sin anticoagulante. El suero se puede congelar.

“ Para estar seguros de la etiología del problema hay que trabajar con pulmón o con lavados traqueobronquiales

Aunque en la necropsia se pueden encontrar parásitos en los diferentes órganos, para el estudio de estos, la mejor muestra son las heces tomadas del recto de los animales donde se detectan las formas de eliminación. Se deben enviar refrigeradas al laboratorio para impedir que los huevos sigan desarrollándose y pierdan sus características típicas. ■

Sariñena, 18, 19 y 20 de septiembre 2009

XXIV Edición

Feria industrial, agrícola y ganadera de Los Monegros.

Femoga 09

FEMOGA



AYUNTAMIENTO DE SARIÑENA

