

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Financiado por
la Unión Europea



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización Mundial
de Sanidad Animal
Fundada como OIE

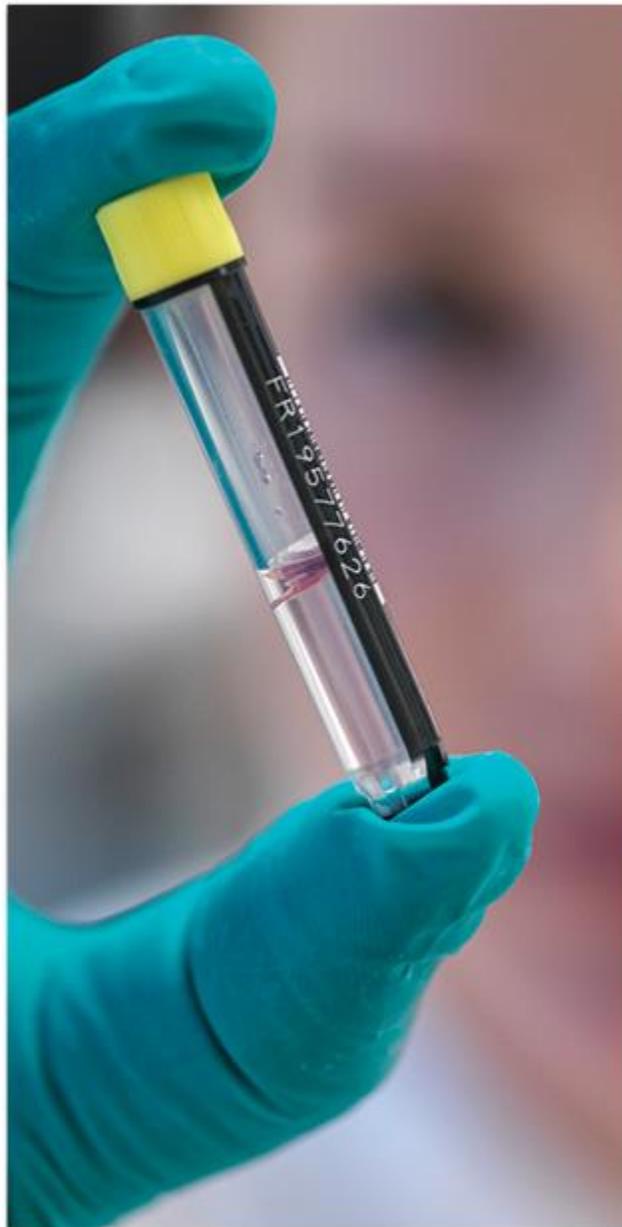
Webinar 3: Técnicas complementarias, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en animales acuáticos.

Claudio Arcos, MV, Julio 2023

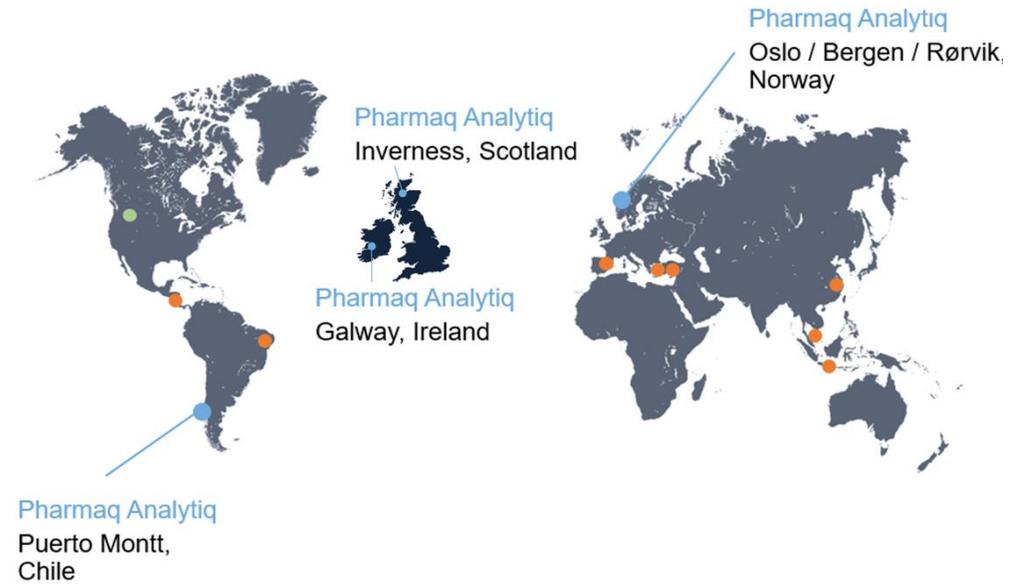
PHARMAQ
Analytiq



CASA
zoetis



Global Network Pharmaq Analytiq

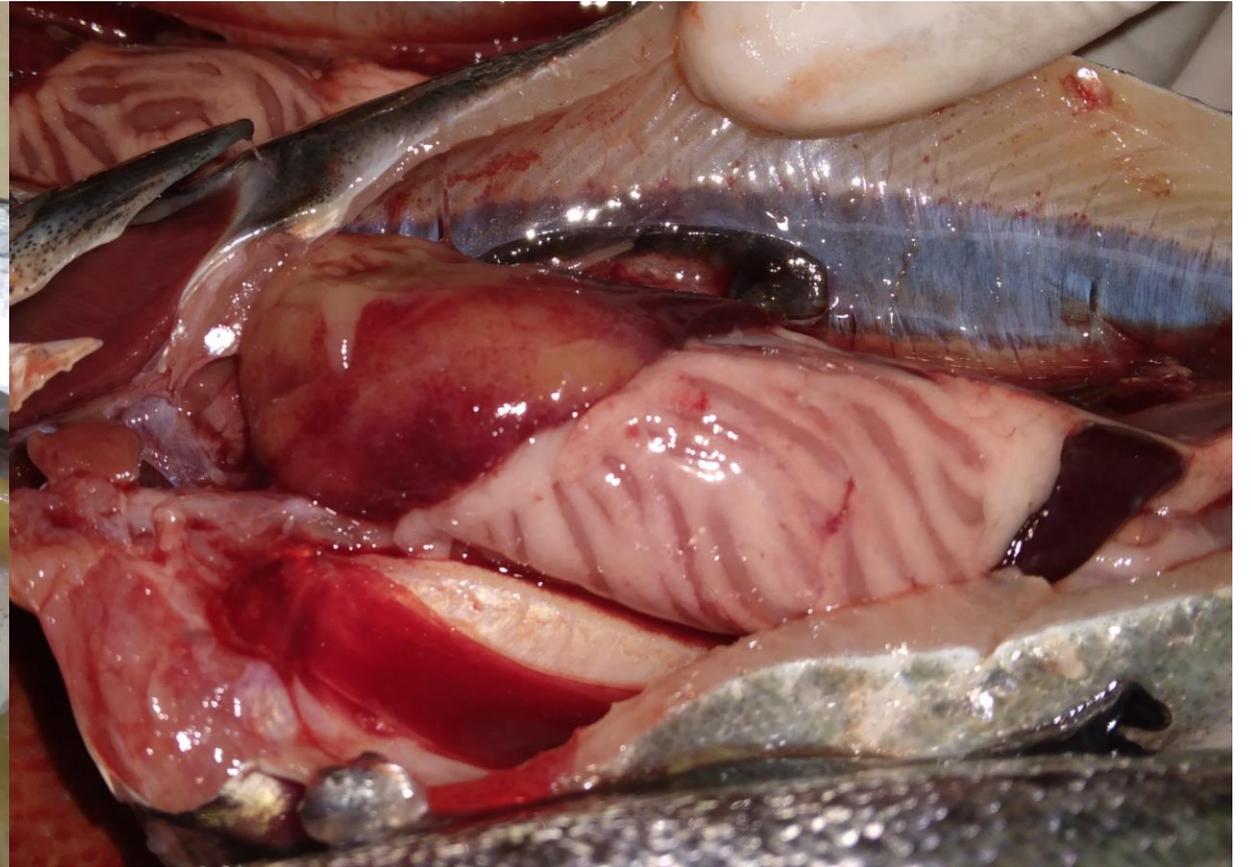
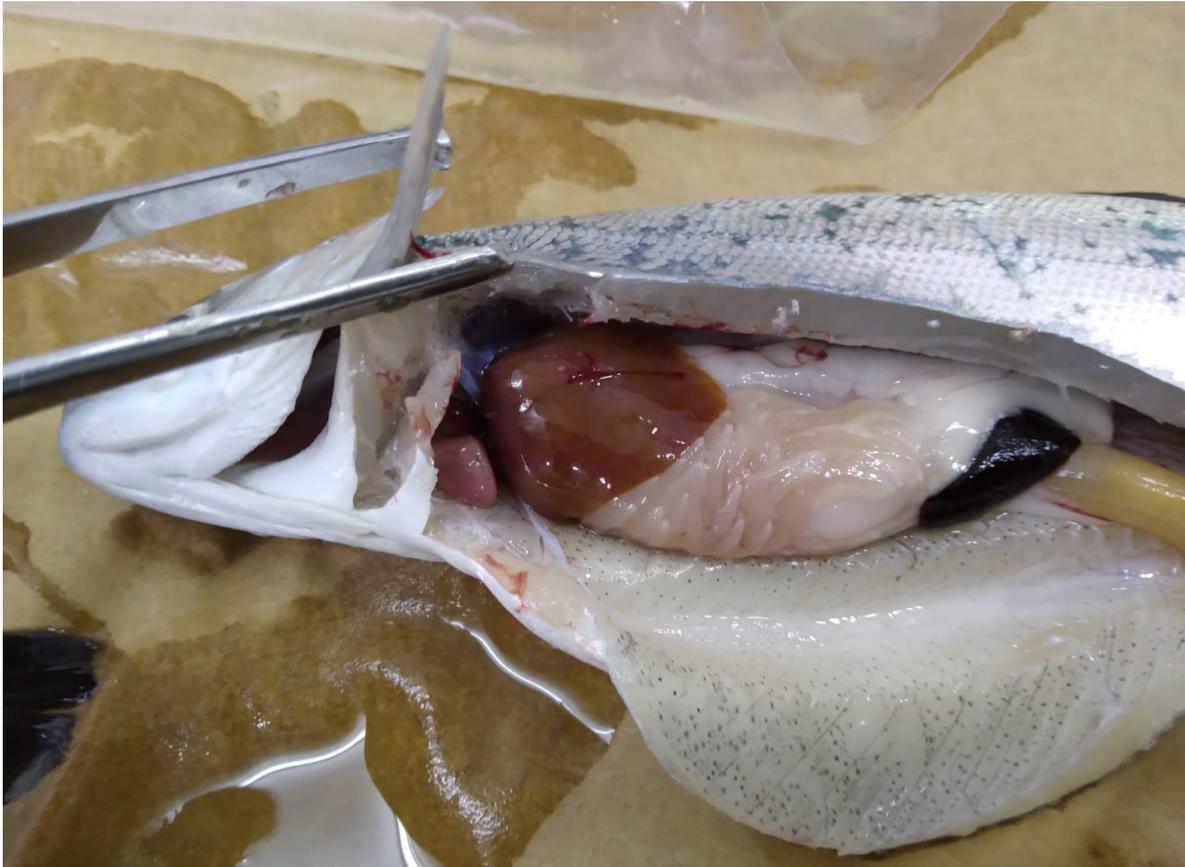


Somos un equipo altamente calificado de 101 personas, trabajando en medicina preventiva para salud de peces

Moderna compañía de biotecnología enfocada específicamente en salud preventiva y bienestar animal de peces, laboratorios diagnósticos, servicios ambientales, entrenamientos en salud y servicios.

Con un enfoque global y apuntando a múltiples especies: sea bass, sea bream, salmon, trout, cleaner fish, tilapia, halibut, zebrafish

Diagnóstico Clínico



Es importante saber diferenciar un pez sano de un pez enfermo

Temario

- **Patología Clínica**
- **Histología**
- **RT-PCR Swabs**



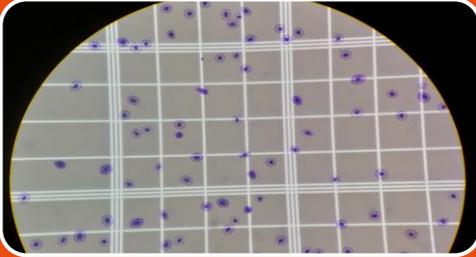
RIQAS

ESQUEMA INTERNACIONAL DE EVALUACIÓN DE CALIDAD (EQA) DE RANDOX

PATOLOGÍA CLÍNICA

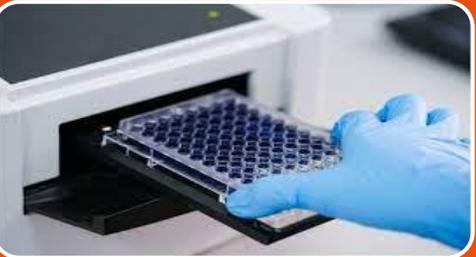


El área de Patología Clínica realiza los siguientes análisis



Hematología

- Hemograma completo (Incluye VGA, Hemoglobina, RGR, VCM, CHCM, Recuento absoluto y relativo de leucocitos, recuento de trombocitos y observación de frotis sanguíneos)
- Hemograma descriptivo
- Hematocrito (VGA)



Bioquímica Clínica

Proteínas totales, Albumina, Bilirrubina total, Aspartato aminotransferasa, Alanino aminotransferasa, Fosfatasa alcalina, Ácido úrico, Urea, Amonio, Creatinina, Colesterol, Triglicéridos, Glucosa, Lactato, Calcio, Fosforo, Hierro, Amilasa, Lipasa, Lactato deshidrogenasa, Creatin Quinasa total



Hormonas

- Melatonina
- Vitelogenina
- 11-Keto-Testosterona
- Otras (Cortisol, LH , etc.)



Corte de pedúnculo para peces menores a 8cm

- Inducir anestesia leve
- Posicionar al pez de cubito lateral en papel Kraft o en superficie antideslizante
- Cortar la zona del pedúnculo con bisturí, en forma de bisel
- Al realizar el corte, de forma inmediata llevar el pez por la parte cortada, al portaobjeto y por impronta ir poniendo gotas de sangre.
- Rotular y dejar secar el frotis

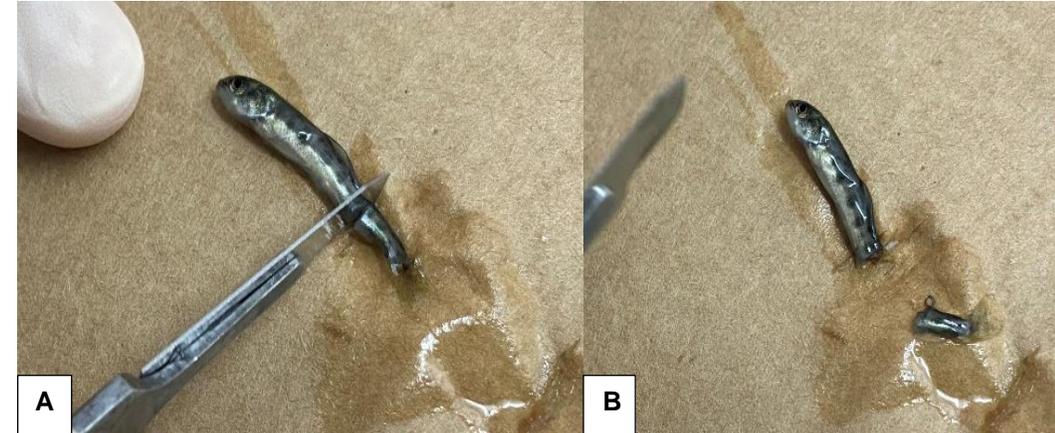


Figura 2. Imagen A. Corte de pedúnculo con bisturí. Imagen B. Corte de pedúnculo realizado

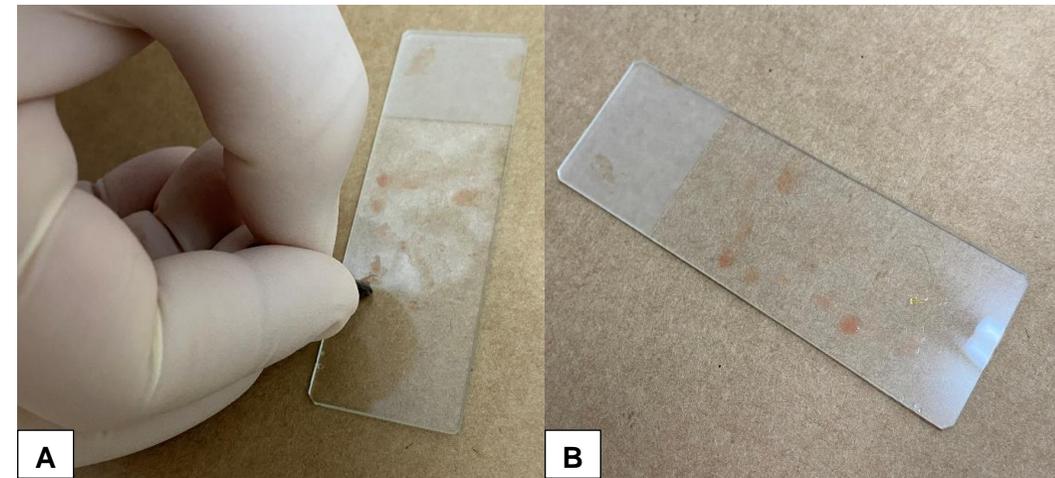
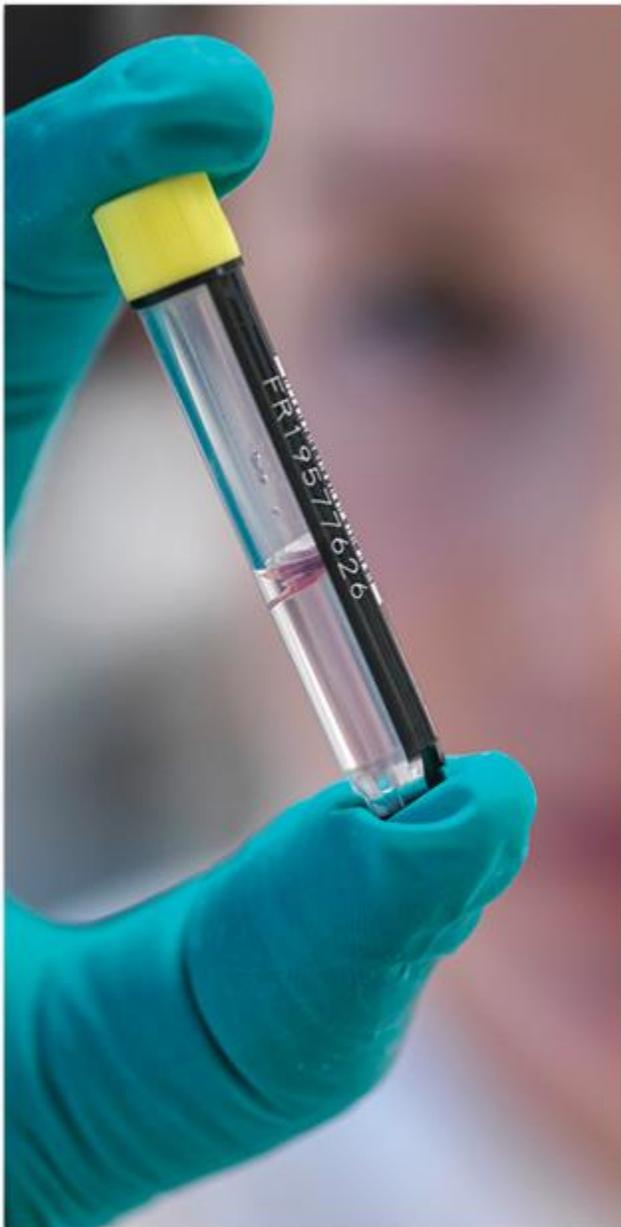


Figura 3. Imagen A. Elaboración de frotis por impronta. Imagen B. Frotis por impronta



Punción Vena Caudal para peces mayores a 8 cm

- Posicionar al pez en posición de cubito lateral sobre papel Kraft o superficie antideslizante
- Introducir aguja de forma perpendicular o lateral , aproximadamente a 1 cm delante del poro urogenital y 3 a 5 mm bajo la línea lateral.
- La aguja se debe introducir hasta tener contacto con la columna vertebral
- Al terminar de obtener el volumen de sangre, se debe desmontar la aguja con una pinza y eliminar en desecho de cortopunzante.
- Abrir el tubo y vaciar la sangre de forma lenta y por la pared interna del tubo. Si este es un tubo con anticoagulante, se debe llenar hasta la marca que este indicada. De esta forma se evita que la muestra se coagule y se preserva la proporción de anticoagulante y muestra de sangre.
- Al llenar el tubo, se pone la tapa y se homogeniza suavemente 10 veces por inversión.
- Rotular el tubo.



Figura 7.2.1. Punción vena caudal perpendicular



Figura 7.2.2. Punción vena caudal lateral

Eritrocitos

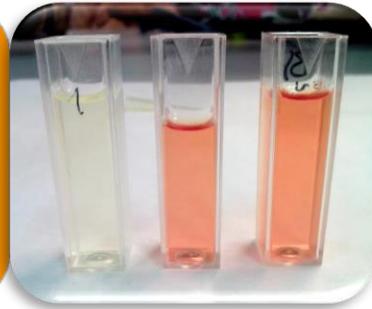
VGA

Volumen porcentual que ocupan los eritrocitos en la sangre



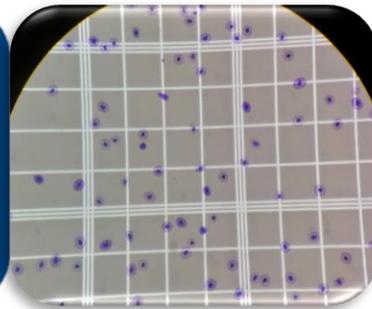
Hemoglobina (Hb)

Responsable del transporte de oxígeno



RGR

Número de eritrocitos en un volumen de sangre.



VCM

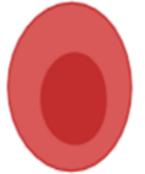
Volumen promedio que tienen los eritrocitos. Es una forma para determinar el tamaño de los eritrocitos.



Microcitosis



Normocitosis



Macroctosis

CHCM

Concentración de hemoglobina promedio que tiene un eritrocito

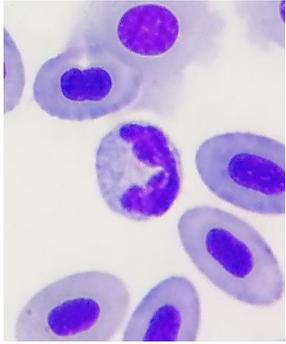


Hipocromía

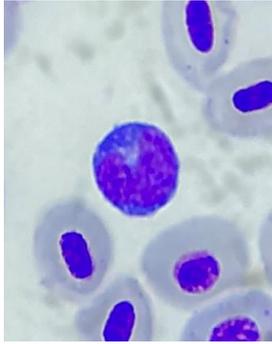


Normocromía

Leucocitos



Heterófilo Normal



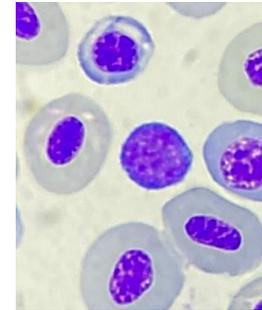
Heterófilo Tóxico

Heterófilos (Neutrófilos)

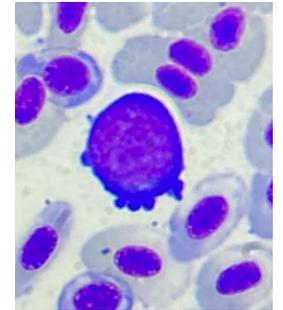
Los heterófilos son fagocitos y generalmente son los primeros leucocitos reclutados a un sitio inflamatorio por quimiocinas y son capaces de eliminar patógenos a través de múltiples mecanismos.

Linfocitos

Los linfocitos son las células más abundantes en un pez sano, representan hasta un 90% del total de las células. Los linfocitos pequeños son células indiferenciadas inactivas que circulan en la forma pequeña hasta que la estimulación antigénica provoque un cambio en su morfología



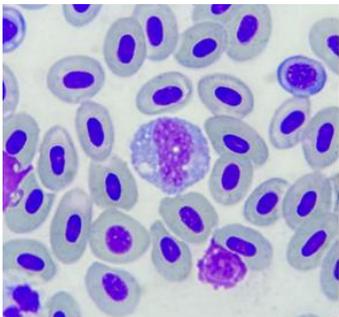
Linfocito Normal



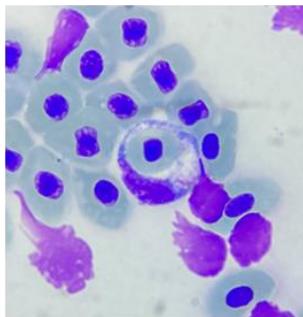
Linfocito Reactivo

Monocitos

Los monocitos en la sangre son reclutados a los sitios de inflamación por actividad cinética para convertirse en macrófagos en tejidos



Monocito



Macrófago

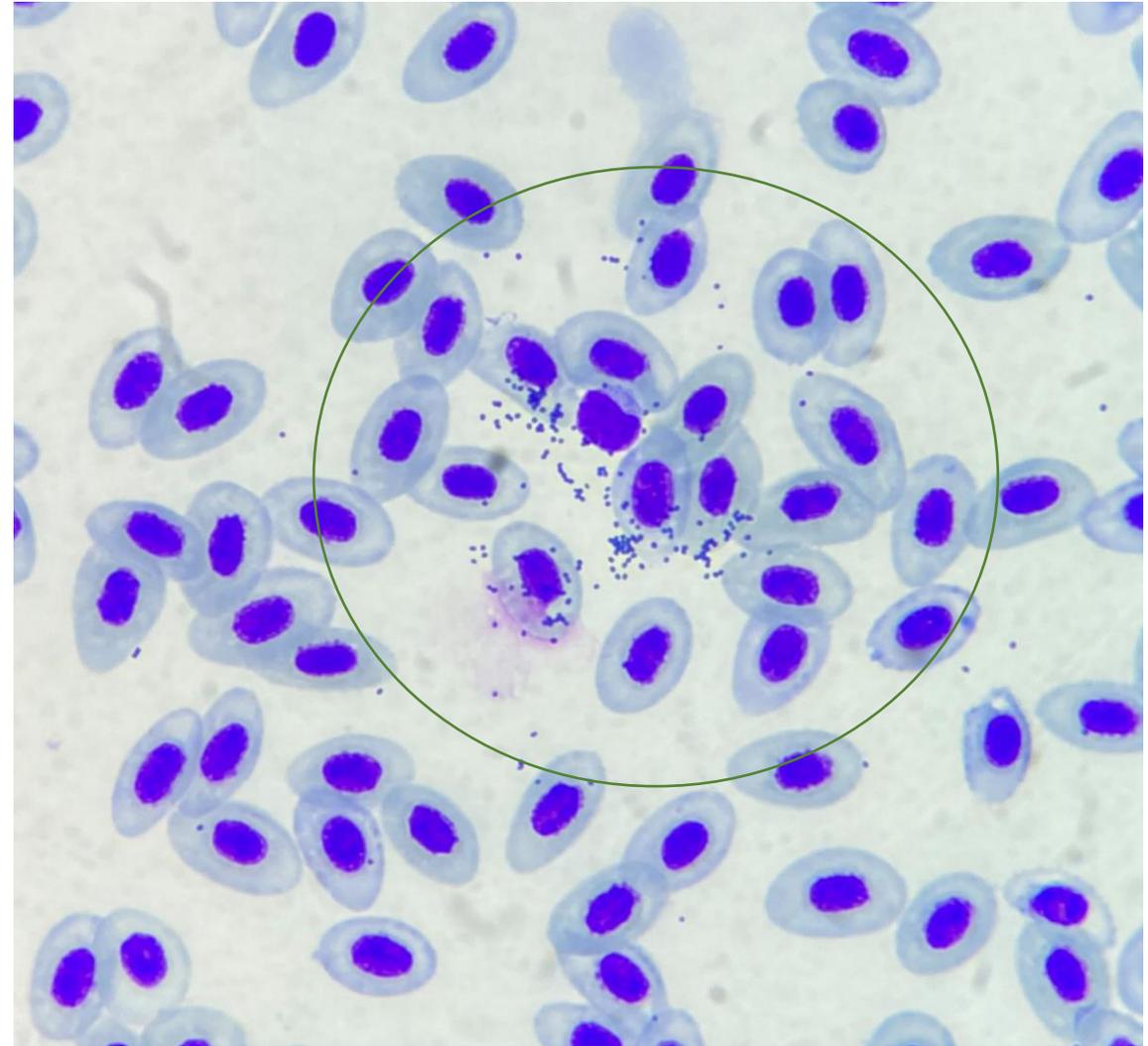
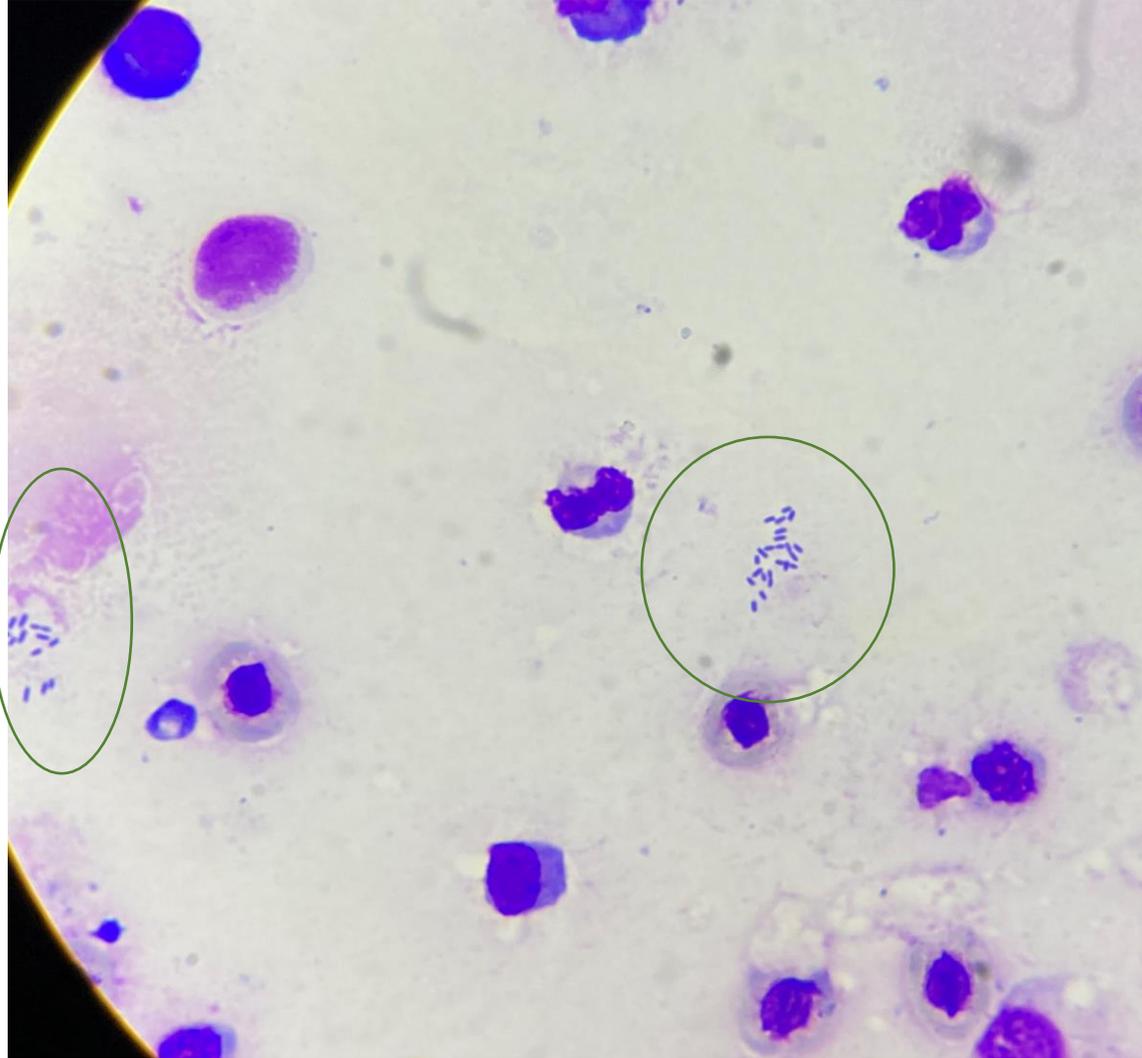
Tabla 1. Resultados hemograma completo, Jaula 105

Cód. interno	Jaula	Muestra	VGA	HB	RGR	VCM	CHCM	Leucocitos		Linfocitos		Heterófilos		Monocitos		Trombocitos	Observaciones
			%	(g/L)	X10 ⁶	(fl)	(g/L)	(μl)	%	(μl)	%	(μl)	%	(μl)	(μl)		
PCL-0598	105	1	20,9	38,6	0,44	475,0	184,9	11200	27	3024	73	8176	0	0	23846	AN++, MC++, HC+; LC+++; HT+	
PCL-0599		2	44,4	64,4	0,72	616,7	145,0	12300	17	2091	81	9963	2	246	17735	AN+, MC+, LC+++; HT+	
PCL-0600		3	54,7	81,3	0,84	651,2	148,7	29700	38	11286	61	18117	1	297	25321	LC+++; HT+	
PCL-0601		4	19,0	29,8	0,35	542,9	156,9	12450	25	3113	75	9338	0	0	29099	AN+++; MC+++; HC+, LC+; HT+	
PCL-0602		5	37,8	61,5	0,63	600,0	162,6	18480	30	5544	69	12751	1	185	20047	AN+, MC+, LC+++; HT+	
PCL-0603		6	29,3	52,6	0,45	651,1	179,6	15000	36	5400	64	9600	0	0	15025	AN+, MC+, HC+, MT+, LC+++; HT+	
PCL-0604		7	41,2	67,3	0,68	605,9	163,5	19500	12	2340	88	17160	0	0	13016	AN+, MC+, LC+++; HT+	
PCL-0605		8	35,7	65,1	0,56	637,5	182,5	9180	20	1836	80	7344	0	0	16361	AN+, MC+, MT+, LC+	
PCL-0606		9	43,8	76,5	0,70	625,7	174,8	21780	8	1742	92	20038	0	0	11232	AN+, MC+, LC++; HT+	
PCL-0607		10	38,4	71,0	0,66	581,8	185,0	16250	23	3738	77	12513	0	0	16275	AN+, MC+, LC++; HT+	
Media			36,5	60,8	0,60	598,8	168,3	16584	24	4011	76	12500	0	73	18796		
Desviación Estándar			10,9	16,2	0,15	54,6	15,0	6083	10	2895	10	4476	1	120	5716		
Mediana			38,1	64,8	0,65	611,3	169,1	15625	24	3068	76	11238	0	0	17048		
Valor Referencial	Mín.		35	50,8	0,6	399,1	91	4689	66	2566	12	532	0	0	5399		
	Máx.		68	100	1,2	775,6	209,6	23572	88	19027	32	6194	4	694	24615		

Tabla 2. Nomenclatura hemograma completo

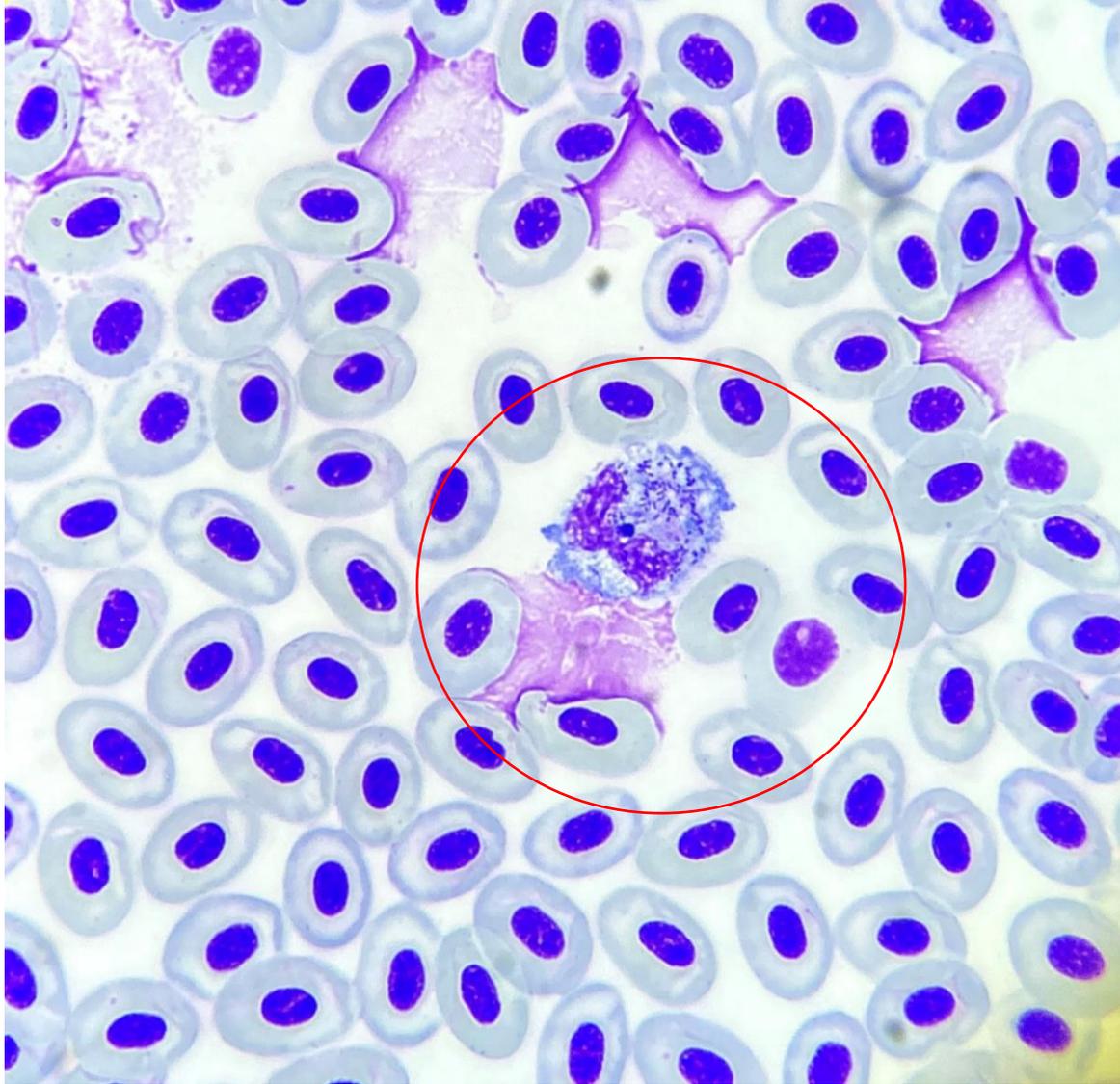
VGA	Volumen globular aglomerado	MT	Mitosis
HB	Hemoglobina	LC	Lisis celular
RGR	Recuento glóbulos rojos	LR	Linfocitos reactivos
VCM	Volumen corpuscular medio	LB	Linfoblastos
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media	HT	Heterófilos tóxicos
AN	Anisocitosis	MA	Monocitos activados
MAC	Macroцитosis	PL	Plasmocitos
MC	Microцитosis	AP	Apoptosis
HC	Hipocromía	AGT	Aglomerado de trombocitos

Imágenes al Frotis

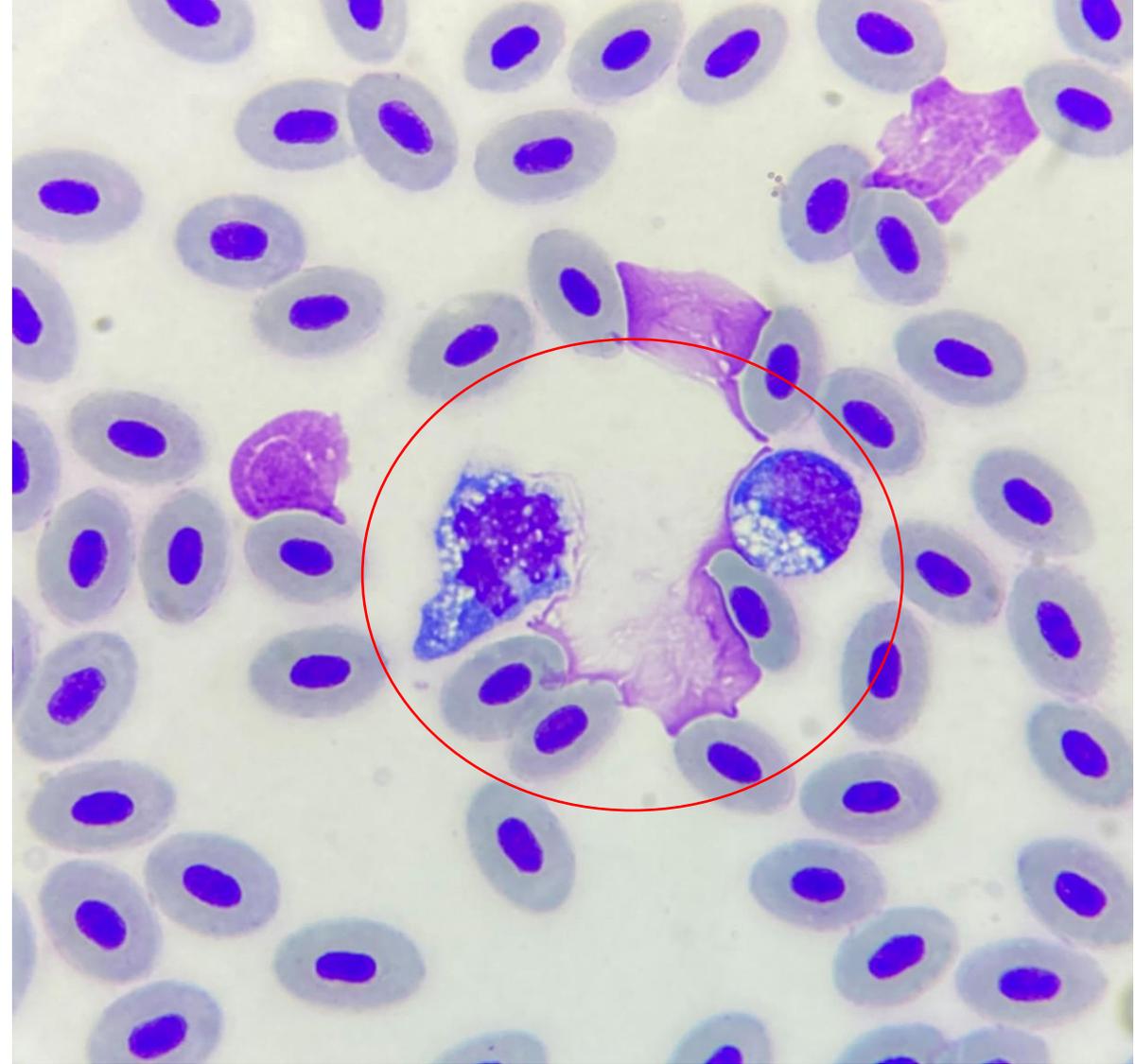


Bacterias en frotis de sangre

Imágenes al Frotis



Macrófagos fagocitando bacterias

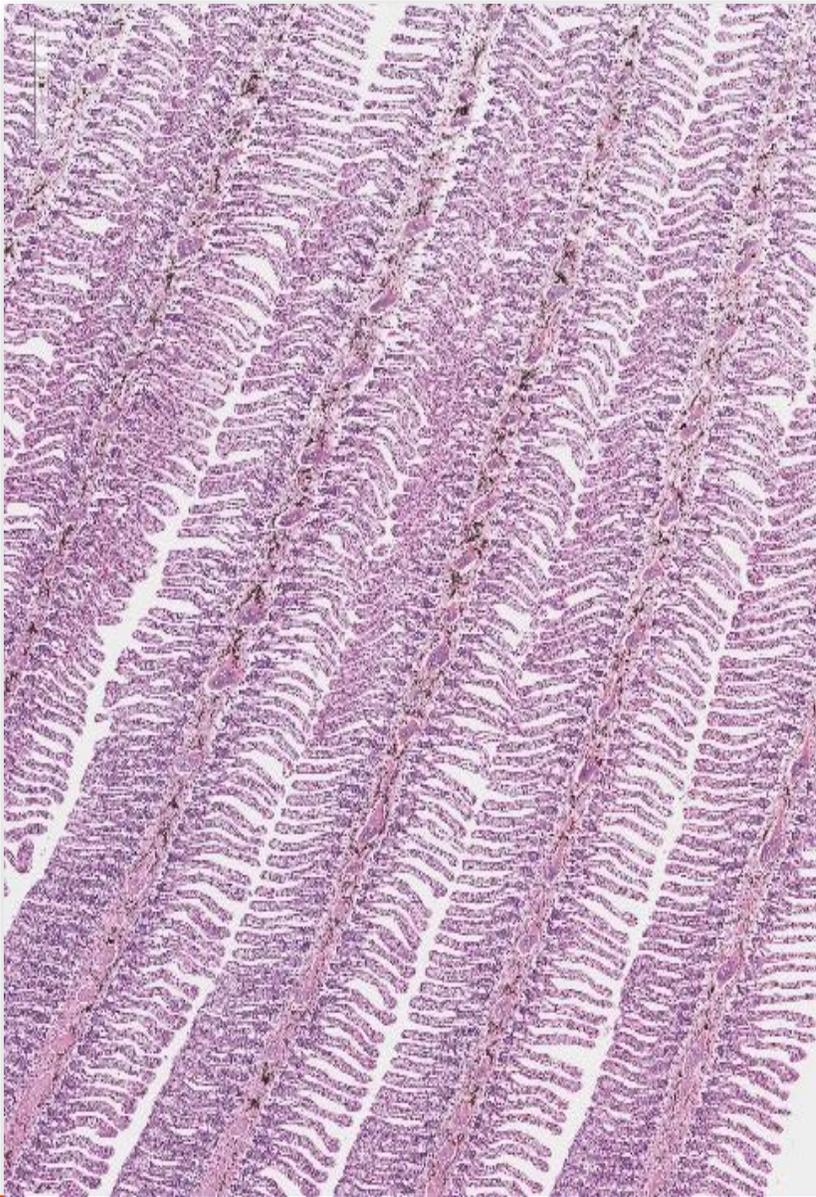


Heterófilos lisando bacterias

Bioquímica Clínica

La bioquímica clínica es la rama de la ciencia medica dedicada al estudio de los componentes químicos de la sangre y tejidos de un individuo. Esto con el objetivo de conocer su fisiología y alteraciones que pueden apoyar el diagnostico de una patología.

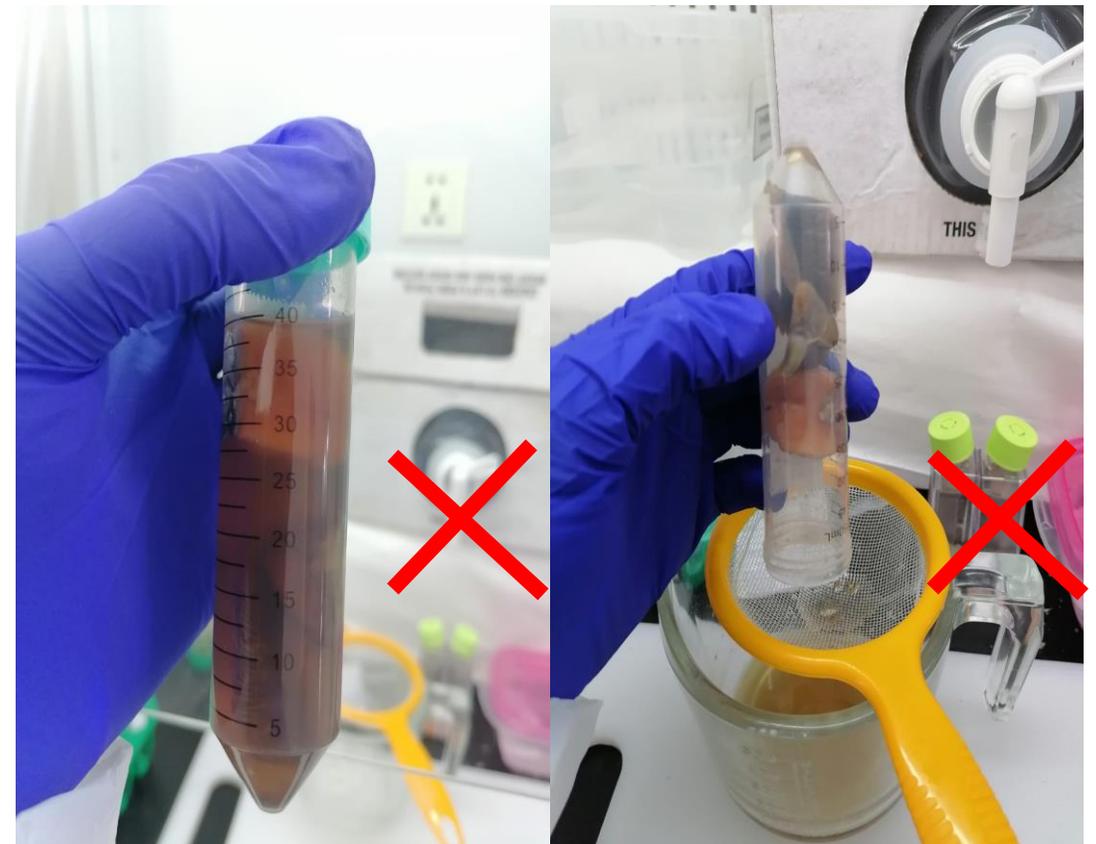
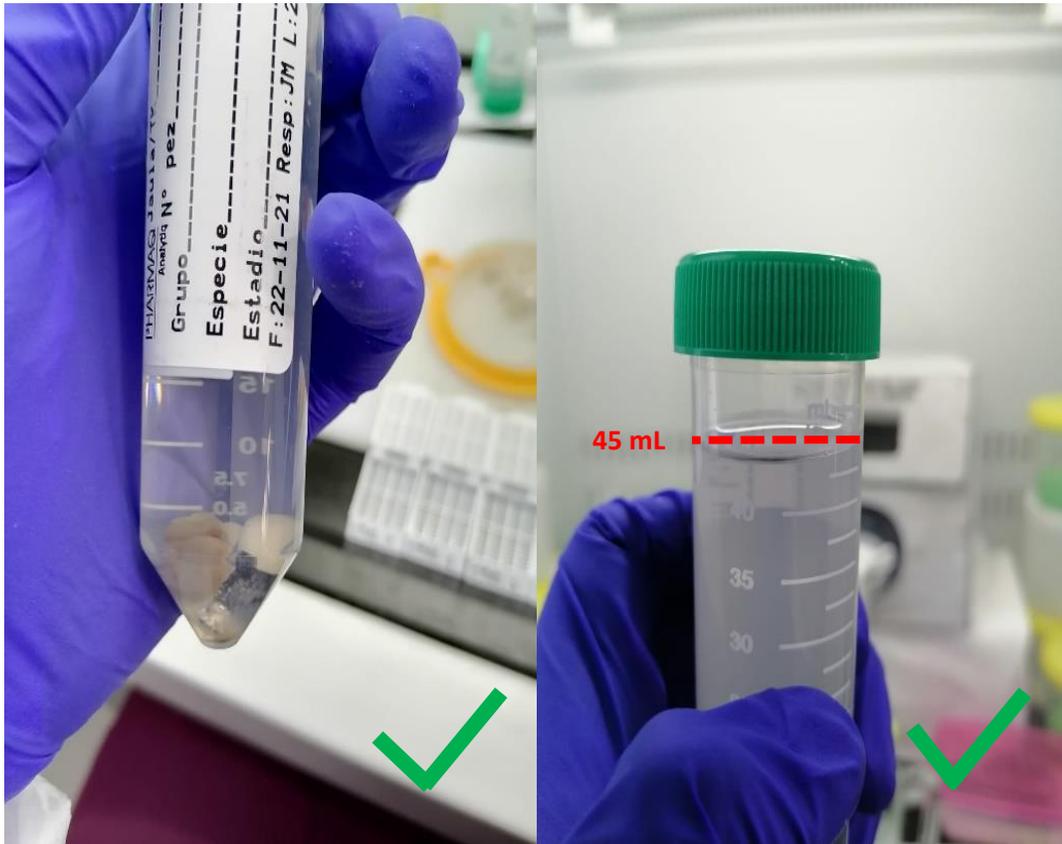
Perfil Hepático	Perfil Branquial - Renal	Metabolitos	Minerales	Enzimas	Electrolitos plasmáticos
<ul style="list-style-type: none">• Aspartato aminotransferasa (AST/GOT)• Alanino aminotransferasa (ALT/GPT)• Fosfata alcalina (ALP)• Bilirrubina total• Proteínas totales• Albúmina	<ul style="list-style-type: none">• Creatinina• Urea• Ácido úrico• Amonio	<ul style="list-style-type: none">• Glucosa• Colesterol• Triglicéridos• Lactato	<ul style="list-style-type: none">• Calcio• Fosforo• Hierro	<ul style="list-style-type: none">• Amilasa• Lipasa• Creatin quinasa total• Lactato deshidrogenasa	<ul style="list-style-type: none">• Sodio• Cloro• Potasio



HISTOLOGÍA



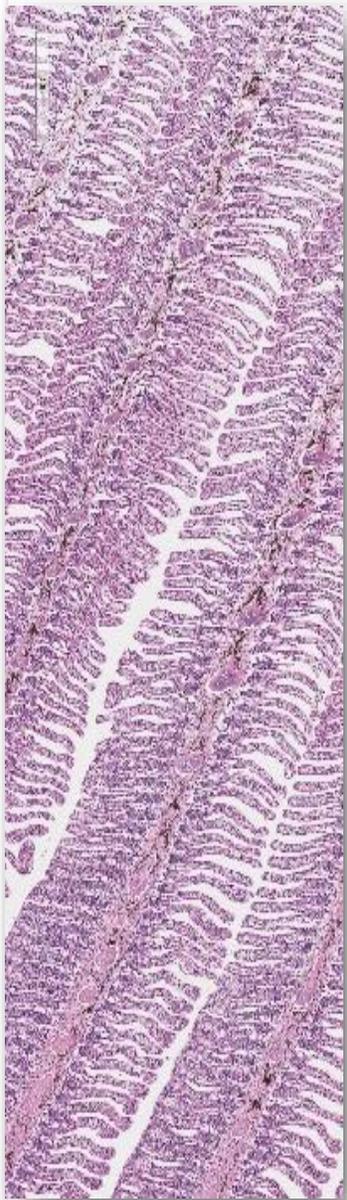
Toma de muestra



Para un adecuado diagnóstico es primordial realizar una adecuada toma de muestra.

HISTOLOGÍA

Órganos de elección en histopatología

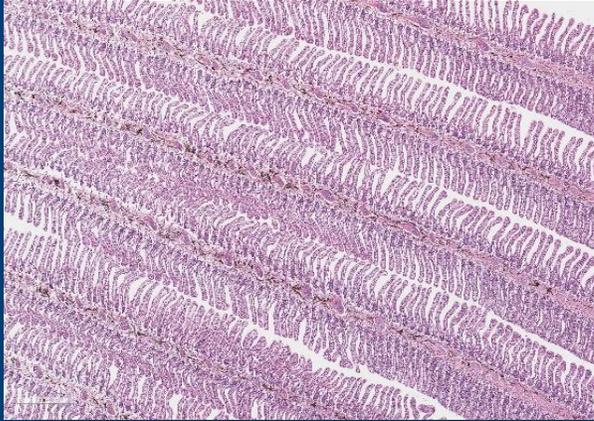


Branquia
 Corazón
 Músculo
 Hígado
 Bazo
 Riñón medio o posterior
 Ciegos pilóricos
 Páncreas
 Intestino

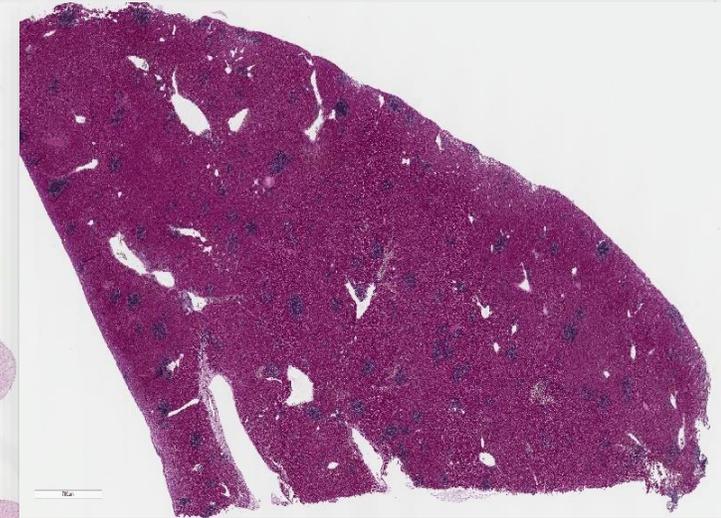
Lista	Enfermedad Lista EAR	Tejido de elección para Histología.
1	Necrosis hematopoyética epizoótica	H,Rñ, Bz, TGI, Pc, Br
1	Necrosis hematopoyética infecciosa	H,Rñ, Bz, TGI, Pc
1	Septicemia hemorrágica viral	H, Rñ, Bz
1	Infección por alfavirus de los salmónidos	Pc, Cz, Ms
1	Infección por Totivirus	H, Cz
2	Infección por las variantes HPR0 y otros HF	H, Rñ, Bz, TGI, Br
2	Necrosis pancreática infecciosa	H, Cp, Bz
2	Piscirickettsiosis	H, Rñ, Bz, TGI, Pc, Br, Ce, Cz,Ov,
2	Renibacteriosis	Rñ
3	Flavobacteriosis	Piel, Br, Bz, alevín
3	Furunculosis atípica	Cz, Rñ, Bz, Ms, Br
3	Vibriosis	TGI anterior, Bz, Piel
3	Amebiasis Branquial	Br
3	Síndrome hemorrágico del smolt	H, Bz, Rñ, TGI, Pc
3	Infección por Piscine reovirus- HSMI	Cz, Ms (rojo y blanco)
3	Tenacibaculosis	Piel, Br
3	Síndrome Ictérico del Salmón coho	Hg, Rñ, Bz
3	Enfermedad Nodular de la Branquia	Br
Otras	Desbalance de gases	Br, Ce, alevín completo
Otras	Nefrocalcinosis	Rñ
Otras	Intoxicación por cobre	H
Otras	Intoxicación por aluminio	Cartílago- Hueso-Rñ
Otras	Intoxicación por hierro	Br, TGI, Rñ
Otras	Micosis	Piel, Ms, Br, Rñ, V.natatoria, Alevín
Otras	Protozoos	Br, TGI
Otras	Parásitos	Br, TGI
Otras	Enfermedades branquiales	Br, H

- Listado de enfermedades para Chile

HISTOLOGÍA



H&E. Branquias, aumento 4X. CGD

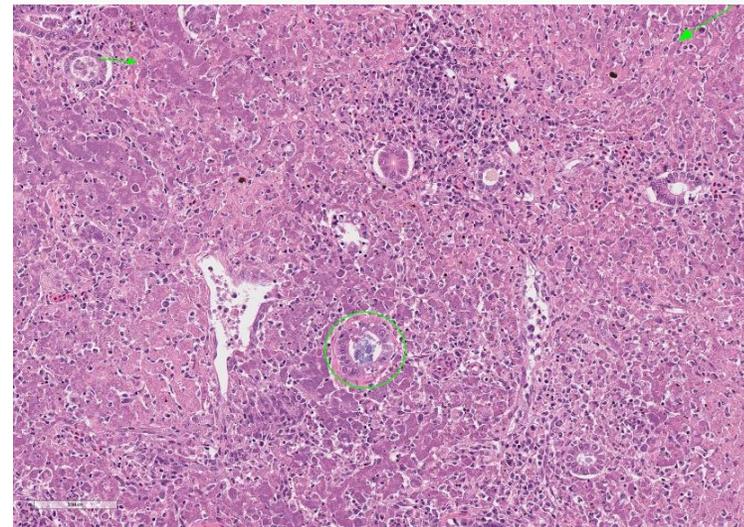


Gram. Hígado, aumento 1X. Sepsis bacteriana

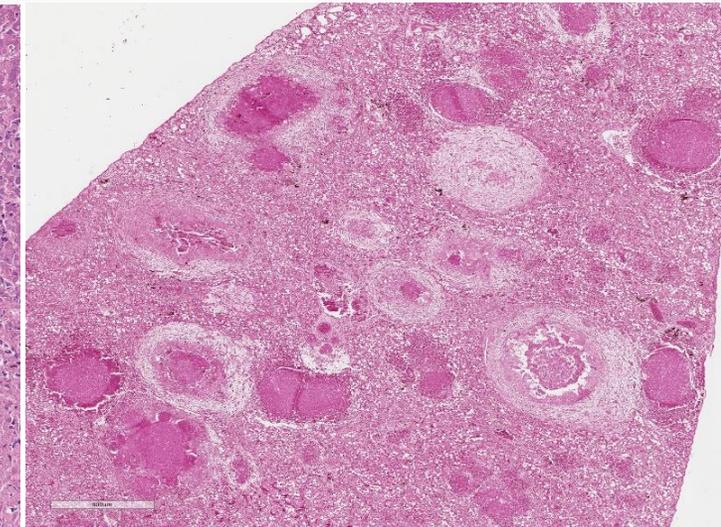
Plataforma Aperio

Red Global de Expertos,
diferentes especies.

Histología H&E, Tinciones Especiales

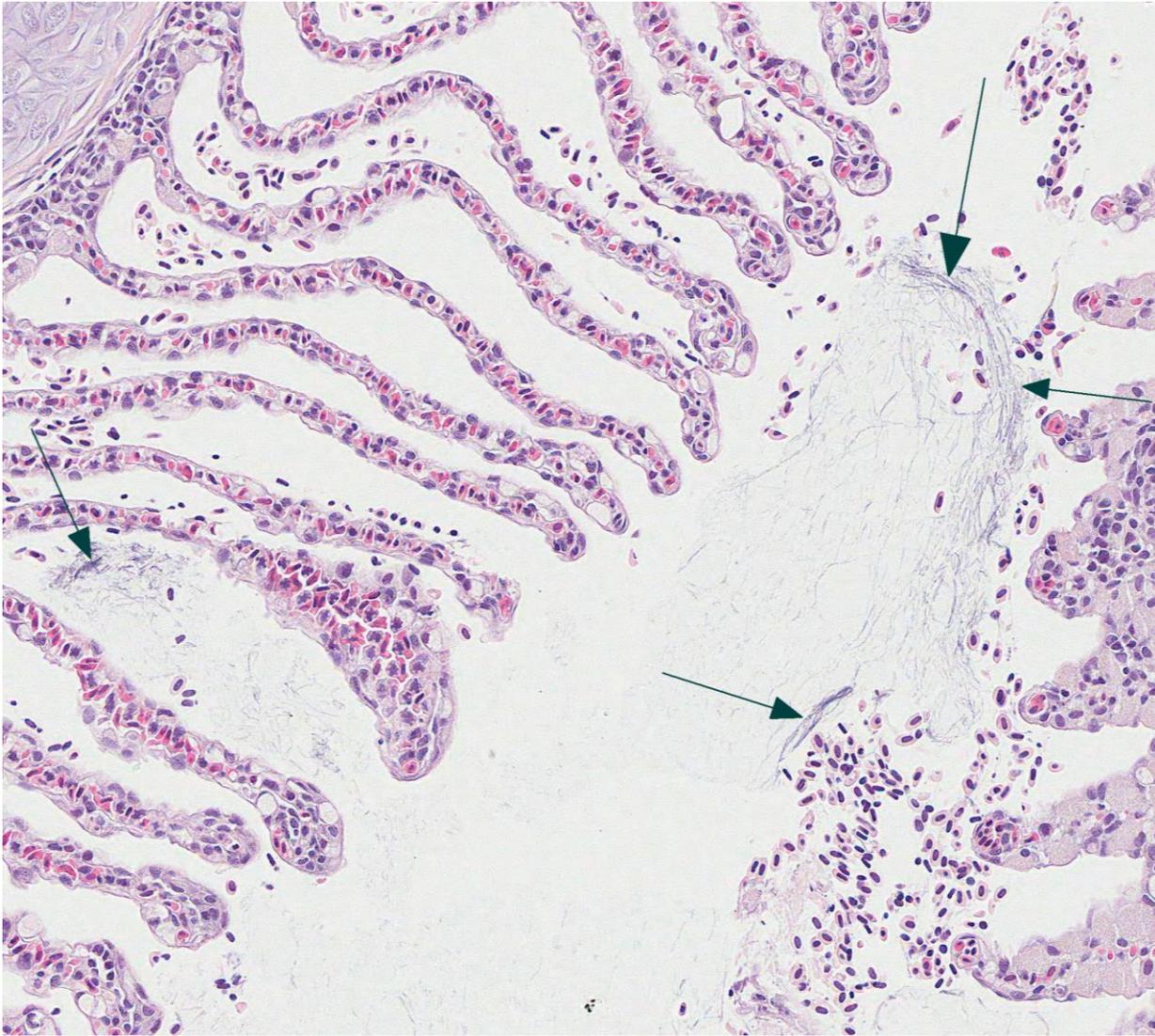


H&E. Riñón, aumento 20X. BKD

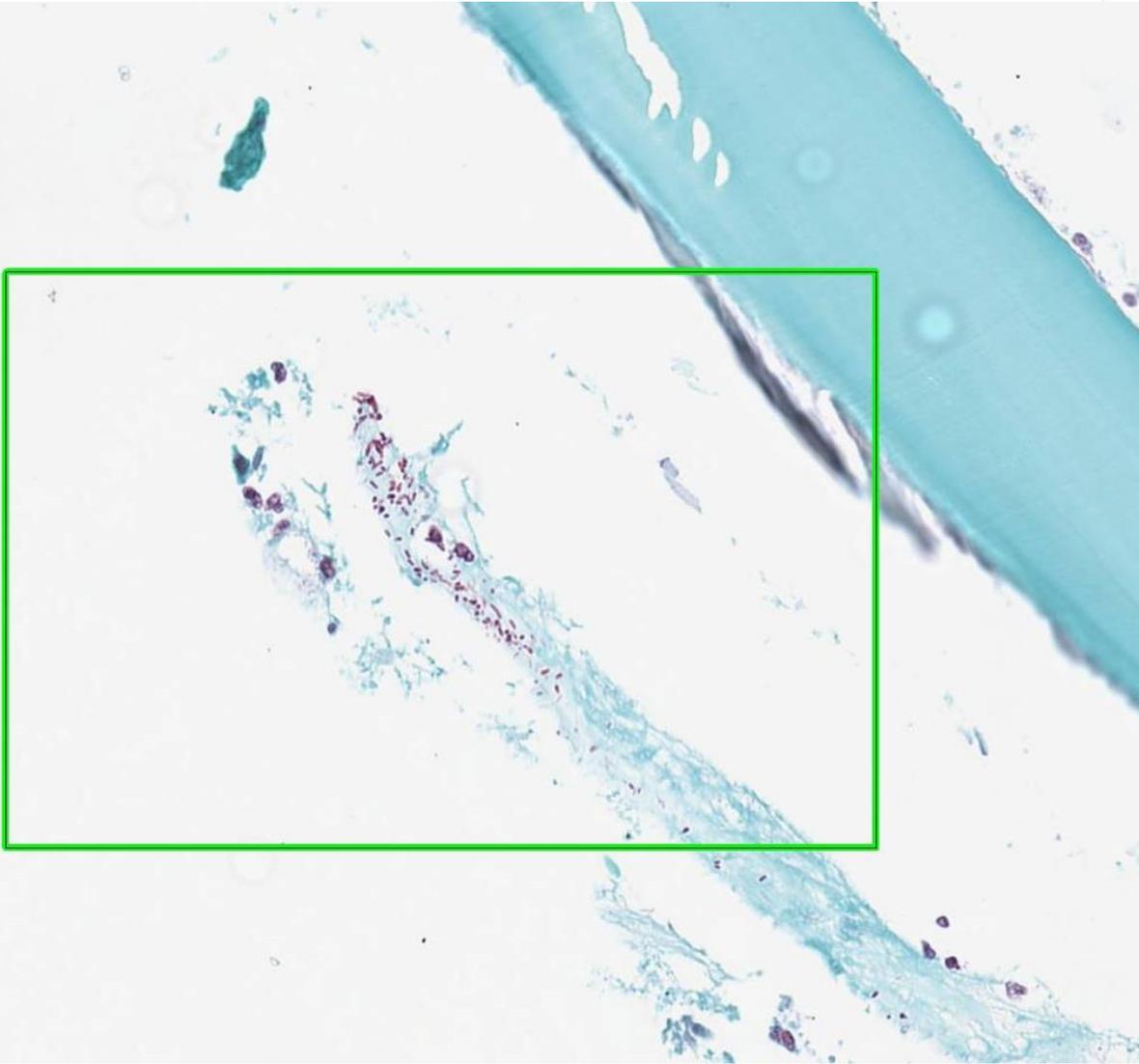


Ziehl Nielsen. Hígado, aumento 4X. SRS.

Bacterias en tejidos

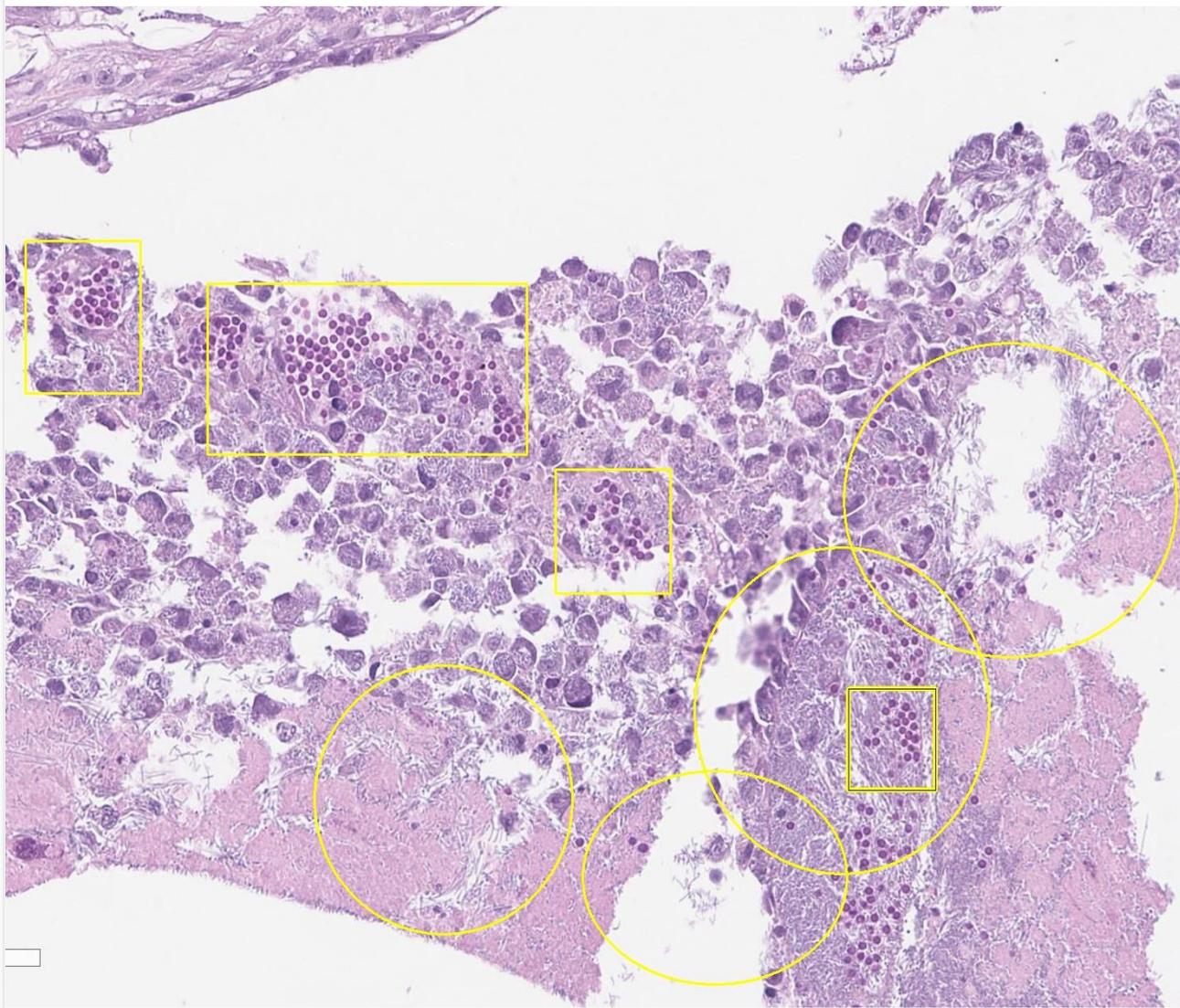


Bacterias filamentosas en branquias

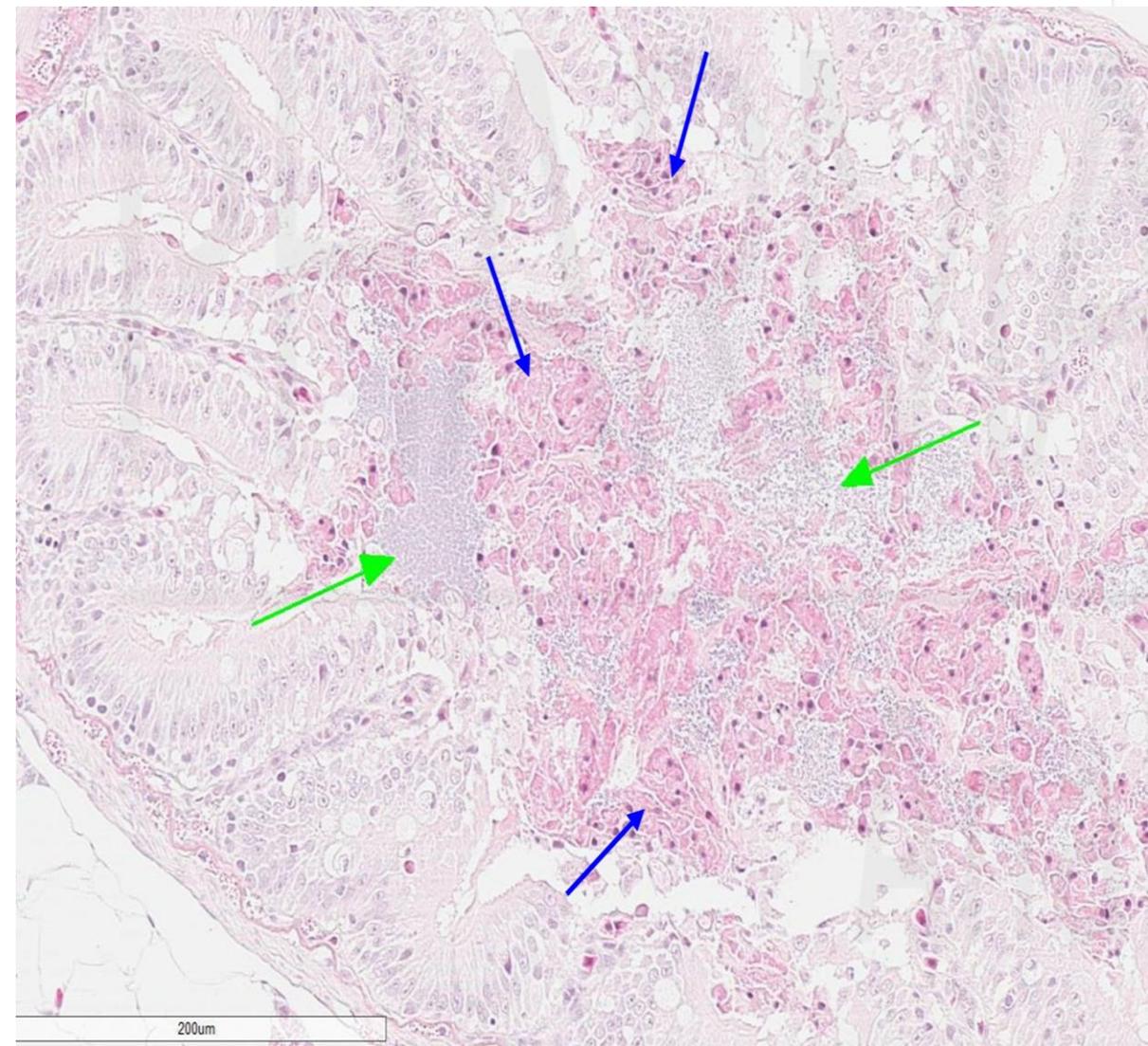


Bacterias baciliformes bajo escamas

Bacterias en Histología



Bacterias en cavidad celómica



Bacterias en lumen intestinal



GILL SWABS

Permite identificar tempranamente presencia de patógenos relacionados con salud branquial mediante biología molecular

Técnica más precisa, robusta y sensible en relación con biopsias de tejido branquial

Metodología no letal, simple, rápida y en línea con las mejores prácticas de [Animal Welfare](#)

Diseño flexible de acuerdo al requerimiento de cada situación y epidemiología local (agentes a testear)

“LA
ENFERMEDAD
NO ES EL
PROBLEMA”

“ES LA
EXPRESSION
DEL
PROBLEMA”



Gracias por
su atención