

2021

LSA-MA-001

MANUAL DE

PRESERVACION Y

ENVÍO DE

MUESTRAS

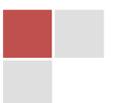
LABORATORIO
DE SANIDAD ANIMAL

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN (MAGA)



Junio de 2021

Versión 2



Introducción

Este manual tiene la finalidad de proporcionar las directrices sobre la adecuada preservación y envío de muestras de origen animal o muestras ambientales por parte de usuarios hacia el Laboratorio de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, tomando como base las Buenas Prácticas de Laboratorio con el fin de reducir los riesgos biológicos hacia el personal, sin afectar la calidad de la muestra y la calidad analítica de las pruebas diagnósticas.

Este documento es de uso obligatorio para todos los usuarios, quienes adquieren el compromiso de utilizarlo y aplicarlo en todos los procesos de preservación y envío de muestras al Laboratorio de Sanidad Animal.

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION.

	Elaboró	Revisó	Aprobó
Nombre	M.V. María Alejandra González	M.V. Hugo Mario Barahona M.V. Maritza Revolorio M.V. Olson Haroldo Palala	Licda. Vanessa Salazar
Cargo	Profesional de Diagnostico	Profesionales de Diagnostico	Coordinadora del Laboratorio Oficial de Sanidad Animal.

Junio, 2021

INDICE

1. Objetivo.....	5
2. Alcance.....	5
3. Definiciones.....	5
4. Documentos de respaldo.....	7
5. Responsabilidad y autoridad.....	8
6. Listado de servicios disponibles en el Laboratorio.....	8
7. Factores básicos en la preservación y envío de muestras al Laboratorio.....	8
8. Criterios de bioseguridad para el transporte de muestras.....	8
9. Recomendaciones generales para la toma de muestras.....	9
10. Criterios de recolección de muestras para análisis de Bacteriología.....	10
11. Tipo de muestras a enviar para análisis de pruebas Diagnósticas de serología.....	11
12. Tipo de muestra para análisis microbiológico.....	12
13. Tipo de muestra para análisis molecular.....	15
14. Requisitos mínimos para el empaque y transporte de muestras: Principio del triple embalaje.....	15
15. Proceso de envío por medio de encomienda al Laboratorio.....	16
16. Criterios del Laboratorio para rechazo de muestras.....	16
17. Anexo.....	18

1. OBJETIVO

- 1.1 Establecer las directrices para la preservación y envío de muestras al Laboratorio de Sanidad Animal.
- 1.2 Minimizar el riesgo biológico y físico para el personal de campo y de laboratorio durante el embalaje, transporte, recepción y manipulación de las muestras.

2. ALCANCE

Este Manual es de aplicación obligatoria para cualquier usuario del Laboratorio de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.

3. DEFINICIONES

- **ABSCESO:** Infección e inflamación de un tejido caracterizado por la acumulación de pus. Puede ser externo y visible, sobre la piel, o bien interno.
- **BIOCONTENCION:** Sistemas y procedimientos diseñados con el fin de evitar la liberación accidental de agentes etiológicos.
- **BIOSEGURIDAD:** Conjunto de medidas preventivas destinadas a mantener el control de factores de riesgo laborales procedentes de agentes biológicos, físicos o químicos, logrando la prevención de impactos nocivos, asegurando que el desarrollo o producto final de dichos procedimientos no atenten contra la salud y seguridad de los trabajadores y el medio ambiente.
- **CULTIVO:** Método de obtención de microorganismos, células o tejidos mediante siembras controladas en medios adecuados.
- **DESCONTAMINACIÓN:** Tratamiento químico aplicado a objetos que tuvieron contacto con reactivos y/o microorganismos con el fin de inactivarlos.
- **DESECHO CONTAMINADO O INFECCIOSO:** Aquellos con el potencial de causar infección, debiendo ser eliminados con previa desinfección.
- **DESECHOS NO CONTAMINADOS O NO INFECCIOSOS:** Aquellos que carecen de potencial para causar infección, y se pueden reutilizar, reciclar o eliminar como “basura común”.
- **DESINFECCIÓN:** Proceso que elimina la mayoría de microorganismos patógenos, excepto sus esporas.
- **DESINFECTANTE:** Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizadas para eliminar microorganismos, y que son aplicados en superficies u objetos inanimados. La presencia de materia orgánica como sangre, sueros o heces, afecta negativamente la potencia de los desinfectantes.
- **DETERGENTE:** Material tenso activo diseñado para remover y eliminar la contaminación indeseada de alguna superficie o material.
- **EEB:** Encefalopatía Espongiforme Bovina.

- **ENSAYO o ANALISIS DE LABORATORIO:** Sinónimo de prueba diagnóstica, método de prueba o análisis.
- **EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP):** Constituyen elementos básicos de protección para el personal con los que se desempeñan diferentes actividades técnicas, estando diseñados para proporcionar protección contra uno o más peligros.
- **ESPORA:** Estructura producida por algunas bacterias, que tiene la capacidad de resistir los procesos normales de desinfección y condiciones ambientales desfavorables.
- **ESTERILIZACIÓN:** Destrucción de todos los microorganismos, incluyendo esporas bacterianas.
- **EXUDADO:** Líquido que se filtra desde los vasos sanguíneos hacia los tejidos cercanos. Este líquido está compuesto de células, proteínas y materiales sólidos. El exudado puede supurar a partir de incisiones o de zonas de infección o inflamación. También se conoce como pus.
- **FLUIDOS CORPORALES:** Sustancias que pueden fluir o que se producen en el interior de los seres vivos.
- **HECES:** Material de desecho que descargan los intestinos. Las heces están compuestas de alimentos que no se digirieron, bacterias, moco y células del revestimiento de los intestinos también se llama materia fecal.
- **HIELERA:** Recipiente hermético destinado a la preservación de muestras.
- **HIGIENE:** Son todas las medidas necesarias para garantizar la sanidad e inocuidad.
- **HISOPO:** Instrumento utilizado para recoger muestras de conjuntiva y oídos, pústulas de la piel recientemente rotas, heridas profundas e infecciones de tejidos suaves y otras para su posterior estudio. Es usado para saber que microorganismo afecta a una infección, tiene forma de bastoncillo acabado en una punta de algodón.
- **LNS:** Laboratorio Nacional de Salud, perteneciente al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- **LSA:** Laboratorio de Sanidad Animal, perteneciente al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.
- **LIMPIEZA:** Proceso mediante el cual se eliminan materias orgánicas y otros elementos extraños de los objetos en uso, mediante el vapor con agua, con o sin detergente, utilizando una acción mecánica o de arrastre.
- **MATERIALES EXTRAÑOS:** Se incluyen cabellos, polvo, cartón, plumas, algodón, diversidad de líquidos, etc.
- **MEDIDAS DE CONTENCIÓN PRIMARIA:** Corresponden a las buenas prácticas de trabajo y el uso adecuado de los equipos de protección que buscan proteger al personal y el ambiente
- **MEDIDAS DE CONTENCIÓN SECUNDARIA:** Corresponden a las condiciones de infraestructura del laboratorio que buscan proteger al ambiente externo del laboratorio.

- **MEDIO DE TRANSPORTE:** Medio de cultivo capaz de mantener viva una muestra o cepa de un microorganismo por un periodo de tiempo prologando.
- **MUESTRA:** Todo aquel material biológico obtenido del individuo vivo o muerto, de la población susceptible o de su ambiente y representativa del problema de estudio.
- **ÓRGANO:** Agrupación de diversos tejidos que forman una unidad estructural encargada del cumplimiento de una función determinada en el seno de un organismo pluricelular.
- **PLASMA:** Medio líquido de la sangre, o cuando se ha evitado la coagulación de la misma.
- **RIESGO:** Probabilidad de ocurrencia de un suceso en la que interviene un peligro y genera una consecuencia.
- **SUERO:** Líquido obtenido de la sangre coagulada (sin fibrina) que posee menor cantidad de algunos constituyentes que el plasma.

4. DOCUMENTOS DE RESPALDO:

4.1 DOCUMENTOS INTERNOS

1. LSA-FO-014 Solicitud de análisis.
2. LSA-MA-002 Manual de bioseguridad.
3. LSA-GUI-001 Guía Informativa del usuario.
4. LSA-LIS-093 Pruebas disponibles en el Laboratorio de Sanidad Animal

4.2. DOCUMENTOS EXTERNOS

1. LSA-EX-001 Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. OIE 2018 8ta edición.
2. LSA-EX-012 Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras. PANAFTOSA-OPS/OMS, 2017
3. LSA-EX -21 USDA.APHIS
www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/lab-info-services

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

- 5.1. Es responsabilidad de todos los usuarios del laboratorio aplicar las directrices establecidas en el presente Manual, para la preservación y envío de muestra al Laboratorio de Sanidad Animal.
- 5.2. Es responsabilidad del personal del Laboratorio de Sanidad Animal, verificar las características de las muestras remitidas por los usuarios.

6. Listado de servicios disponibles en el Laboratorio

Es necesario que antes de la toma de muestra se consulte los documentos que el Laboratorio actualiza cada trimestre en el sitio web de Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación https://visar.maga.gob.gt/?page_id=16139 o solicitarse por correo electrónico al correo repcionlsa@gmail.com, en el cual encuentra el portafolio de ensayos **LSA-FO-066** y los formularios de solicitud de análisis.

7. Factores básicos en la preservación y envío de muestras al laboratorio

7.1. Calidad de la muestra

Las muestras tomadas deben ser representativas de la enfermedad que se sospecha y de las lesiones observadas en los tejidos, con el fin de tener una mejor oportunidad de aislar el agente causal o identificarlo a través de la determinación de anticuerpos o antígenos.

7.2. Cantidad de muestra

La cantidad de la muestra debe ser la requerida según la prueba diagnóstica a solicitar, ver tabla No. 1. Si se solicitan varios diagnósticos, se debe enviar la cantidad de muestra necesaria para cubrir todos los análisis requeridos.

Tabla 1. Volumen de muestra por Diagnostico requerido.

Brucelosis				
Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Rosa de Bengala	Suero	Ice pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante
	Sangre	Ice Pack	4 ml	Tubo sin anticoagulante
ELISA	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante
	Sangre	Ice Pack	4 ml	Tubo sin anticoagulante
BPA	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante
	Sangre	Ice Pack	4 ml	Tubo sin anticoagulante
FPA	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante
	Sangre	Ice Pack	4 ml	Tubo sin anticoagulante
Prueba de anillo en leche	Leche	Ice Pack	100 ml	Bolsa o frasco estéril
Enzimoimmunoensayo PPC AC (ELISA PESTE PORCINA CLASICA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS)Enzimoimmunoensayo PPC AG (ELISA PESTE PORCINA CLASICA DETECCIÓN DE ANTIGENO)				
Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
PPC (ELISA)	Suero	Ice pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante

Enzimoimmunoensayo CAEV AC ELISA PARA ARTRITIS ENCEFALITIS CAPRINA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
CAEV (ELISA)	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante

Enzimoimmunoensayo Lengua Azul ELISA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Lengua Azul (ELISA)	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante

Inmunodifusión Anemia Infecciosa Equina (IDIA AIE)

Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Anemia Infecciosa Equina	Suero	Ice Pack	2 ml	Tubo sin anticoagulante

Influenza Aviar, New Castle

Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Inhibición de la hemoaglutinación para Influenza Aviar H7N3 H5N2	Suero	Ice Pack	1 ml	Viales y/o pajillas
Inhibición de la hemoaglutinación New Castle	Suero	Ice Pack	1 ml	Viales y/o pajillas
Inmunodifusión Influenza Aviar IDIA	Suero	Ice Pack	1 ml	Viales y/o pajillas

IA				
Influenza Aviar (PCR)	Hisopado traqueales Suero	Ambiente Ice Pack	1 ml	Hisopos Viales y/o pajillas
Encefalopatía Espongiforme Bovina (ELISA EEB) Rabia (Inmunofluorescencia)				
Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
EEB (ELISA)	Cerebro que contenga el Obex	Ice Pack	1 cerebro	Hielera
Rabia (Inmunofluorescencia)	Cerebro Bovino	Ice Pack	1 Cerebro	Hielera
Hemoparásitos				
Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Piroplasmosis, Anaplasmosis	Sangre completa	Ice Pack	5 ml	Tubo con EDTA
Microbiología				
Prueba diagnostica	Muestras	Tipo de preservación	Cantidad mínima	Tipo de recipiente
Aislamiento de <i>E.coli</i> , <i>Salmonella pullorum</i> , <i>Salmonella Spp.</i> <i>Streptococcus suis</i> . Loque americana	<i>Ver anexo N. 2</i>			

8. Criterios de Bioseguridad para Transporte de Muestras:

- Las muestras de origen animal deben transportarse de forma segura en los plazos de tiempo establecidos.
- Todas las muestras deben embalarse y transportarse de acuerdo a procedimientos que minimicen el riesgo de exposición de las personas encargadas del transporte y recepción, además de proteger el medio ambiente y las poblaciones animales susceptibles.
- Asegurar que el recipiente que contiene la muestra esté adecuadamente cerrado e identificado.
- Enviar las muestras manteniendo la cadena fría, utilizando refrigerante dentro de una hielera.
- Las muestras siempre deben embalarse y transportarse de tal forma que se proteja su integridad y se evite la contaminación cruzada con otras muestras.

9. Recomendaciones generales para la toma de muestras:

- El responsable de la toma de muestras, debe lavarse las manos antes y después del procedimiento.
- Toda muestra es considerada un riesgo biológico, por lo que se debe utilizar equipo de protección personal mínimo (guantes, mascarilla, lentes).
- Cuando un animal lleva más de dos horas de muerto, no debe realizarse la toma de muestras para análisis microbiológico, ya que puede existir contaminación por otros microorganismos diferentes al agente causal (saprófitos).
- Los animales con pobre condición física no deben ser muestreados, salvo que sean los únicos enfermos.
- Las muestras de tejidos frescos deben colocarse en forma individual en bolsas plásticas estériles de cierre hermético, identificadas correctamente. Es conveniente usar doble bolsa (otra de nylon) para evitar contaminación cruzada.
- Las muestras deben protegerse de los rayos solares directos, calor directo y de la agitación extrema.
- Para evitar la hemólisis de la muestra no exponer a temperaturas altas, retrasar la separación del suero o plasma, la obtención de sangre mediante agujas de diámetro demasiado pequeño o el no quitar la aguja cuando se deposita la sangre en el tubo.
- Las muestras de sueros deben enviarse en viales bien tapados y sellados, para evitar su derrame.
- Todas las muestras deben tomarse en forma ordenada, limpia y aséptica, enviándose en refrigeración o congelación en el menor

tiempo posible y con la cantidad suficiente de refrigerante de acuerdo al tiempo estimado de transporte y entrega.

- Las muestras deben estar claramente identificadas.
- Las muestras que no son enviadas inmediatamente al laboratorio, deberán conservarse en congelación o refrigeración, según el tipo de muestra.
- Antes de iniciar la toma de la muestra, se debe revisar el historial clínico del animal para determinar si ha recibido algún tratamiento con antibióticos, vacunas, desparasitantes, hormonas o anti-virales.
- El material utilizado para la recolección de la muestra de tejidos (hisopos, jeringas, tijeras, pinzas, hojas de bisturí, mangos de bisturí, etc.) debe estar en condiciones estériles. Si los instrumentos a utilizar se han sumergido previamente en soluciones antisépticas, debe tenerse cuidado de no utilizarlos mojados, ya que el contacto con dichas soluciones podría inhibir el crecimiento de los microorganismos en el área de bacteriología.
- Todos los materiales o equipos utilizados en la toma de muestras, deben descontaminarse utilizando desinfectantes o detergentes.
- Las muestras de tallo cerebral deben enviarse exclusivamente con hielo seco o refrigerante sintético y ser embaladas en forma individual en bolsas plásticas nuevas, de preferencia con cierre deslizable o hermético (por ejemplo, Ziploc) e identificadas en forma única e inequívoca.

10. Criterios de recolección de muestras para análisis de bacteriología.

- Las muestras de tejidos con lesiones visibles se aconsejan tomarse en los primeros estados de la enfermedad o aparición del problema, para evitar contaminación secundaria.
- Las muestras podrán tomarse en frascos o bolsas estériles para cada órgano o tejido incluyendo trozos que muestren las lesiones características o bien mediante la toma con hisopos estériles especialmente diseñados para enviarlos al laboratorio en un medio de transporte.
- Cuando se utiliza medios de transporte para las muestras, medios de enriquecimiento u otros, éstos no deben adulterarse (agregar algún tipo de conservante) ya que no cumplen con el objetivo de conservar la muestra hasta su proceso.
- Las muestras deben estar libre de preservantes, tales como alcohol y/o formol, entre otros.
- Ninguna muestra debe congelarse.
- En el caso de no contar con un mechero, es fundamental utilizar por lo menos torundas con alcohol al 70% con las que se pueda empapar las tijeras y pinzas de disección, previo a cualquier corte, cuidando que el alcohol no toque las superficies de los tejidos.

- Quebrar o cortar con tijera (previamente esterilizada con alcohol al 70%) la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador antes de agregar en soluciones de enriquecimiento (solución salina 0.85%, caldo rappaport y tetracionato).

11. Tipo de muestra a enviar para análisis de pruebas diagnósticas de serología:

11.1. Muestra de sangre sin anticoagulante:

Una vez tomada la muestra, evitar mover bruscamente el tubo de vidrio o plástico. Dejarlo a temperatura ambiente en un ángulo de 30 grados hasta formarse el coágulo (aproximadamente 30 a 60 minutos). Mantener la muestra refrigerada en forma vertical usando una gradilla o caja porta viales; si no dispone de ella puede hacer grupos de 10 tubos y unirlos con cinta adhesiva.

Muestra sin anticoagulante	Tiempo	Temperatura de transporte
Suero con coágulo	1 a 48 horas	Temperatura de refrigeración
Suero	Mayor de 48 horas	Temperatura congelación

Si el tiempo de entrega al laboratorio es mayor a 48 horas, se debe extraer el suero del tubo que contiene la muestra sin causar hemólisis y colocarse en un vial o pajilla.



11.2. Muestra de sangre con anticoagulante:

Una vez tomada la muestra, agitar en forma suave el tubo de vidrio o plástico para su homogenización adecuada. Estas muestras no deben congelarse o sobrecalentarse; deben remitirse en refrigeración.



4.1. **Muestra de tallo cerebral para diagnóstico de Encefalopatía Espongiforme bovina (EEB):**

Esta muestra puede obtenerse cuando se extrae el cerebro de la cavidad craneana o bien utilizando una cuchara metálica a través del foramen magno.

La muestra necesaria es el óbex, la cual se encuentra en la porción inicial del tallo cerebral, caudal al cerebelo.

5. Tipo de muestra a remitir para análisis bacteriológico:

Los tres tipos de muestras que son usualmente recolectados para aislamiento bacteriológico son: Tejido, hisopados y fluidos aspirados.

5.1. **Tejido:**

- Evitar contaminación con exudados y/o contenido intestinal.
- Cortar trozos de la parte afectada o con lesiones características del agente causal, de un tamaño no mayor a 4 cm².
- Colocar en frascos estériles con tapa hermética o bolsas estériles individuales.
- Cada tejido debe colocarse en una bolsa separada e identificada. No deben realizarse pool de órganos.
- La muestra de intestino debe ser de por lo menos 10 cm, con nudos en los extremos.
- Para el caso de huevos no fertilizados, enviar al menos 6 unidades en bolsas individuales, ubicados entre dos cartones limpios para protegerlos durante su transporte a temperatura ambiente.
- El ovario y el oviducto son los tejidos idóneos para enviar para el diagnóstico de *Salmonella pullorum*. El hígado, la vesícula biliar, las amígdalas cecales, ovario y el oviducto en el caso de *Salmonella gallinarum*.

- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 48 horas (con excepción de muestras de origen aviar que es de 24 horas) a temperatura de 2 a 8°C.

5.2. **Hisopado de Piel:**

- Seleccionar un área de piel donde se encuentren pústulas intactas.
- Desinfectar el área con alcohol al 70% y algodón, dejar evaporar el alcohol y exprimir el contenido (pústula) entre el pulgar y el índice.
- Impregnar los hisopos (3 mínimos) con el líquido, conservar en tubos estériles con solución salina fisiológica al 0.85% o medio de transporte Stuart.
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 48 horas a temperatura de 2 a 8°C, con excepción de los medios de transporte que deben enviarse a temperatura ambiente.

5.3. **Hisopados de exudados:**

- Desinfectar las fosas nasales con algodón humedecido con alcohol al 70%.
- Si es exudado nasal, introducir el hisopo en la cavidad de la fosa nasal.
- Los hisopados faríngeos o de saliva, deben tomarse dos muestras (dos hisopos) de la misma área, colocándolos inmediatamente en el medio de transporte Stuart o Aimes con carbón.
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 48 horas (con excepción de muestras de origen aviar que es de 24 horas) a temperatura de 2 a 8°C, con excepción de los medios de transporte que deben enviarse a temperatura ambiente.

5.4. **Hisopados de exudados vaginales:**

- Realizar el lavado del área con solución jabonosa.
- Tomar el contenido del fondo del saco vaginal con dos hisopos.
- El material extraído se coloca en un tubo estéril con solución salina fisiológica 0.85% o en medio de transporte Stuart o Aimes con carbón.
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 12 horas a temperatura de 2 a 8°C, con excepción de los medios de transporte que deben enviarse a temperatura ambiente.

5.5. **Hisopados de exudados oculares:**

- Tomar muestra en etapas iniciales o agudas de la infección y antes de la aplicación de antimicrobianos o anestésicos locales.
- Tomar con hisopos estériles los exudados oculares, dos hisopos por área.

- Colocar el hisopo en un tubo de ensayo con solución salina fisiológica al 0.85% o en medio de transporte Stuart.
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 12 horas a temperatura de 2 a 8°C, con excepción de los medios de transporte que deben enviarse a temperatura ambiente.

5.6. **Heces**

- Las muestras de materia fecal para especies mayores deben ser de 25 gramos aproximadamente, tomadas directamente del recto y colocándolas en bolsas o frascos estériles.
- Para especies menores y aves pueden utilizarse hisopos introduciéndolos directamente en el recto y colocándolos después en tubos estériles con medio de transporte (solución salina fisiológica 0.85% o medio de transporte Stuart).
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 48 horas (con excepción de muestras de origen aviar que es de 24 horas) o los a temperatura de 2 a 8°C, con excepción de los medios de transporte que deben enviarse a temperatura ambiente.

5.7. **Fluidos aspirados por medio de la punción:**

Por medio de la técnica de punción se puede obtener líquido pleural, pericardio, sinovial o cefalorraquídeo, sangre y orina.

Las generalidades de la técnica son:

- Se obtienen con jeringas estériles por medio de punción directa.
- Se desinfecta un área de aproximadamente 10 cm con alcohol al 70%.
- Enviar la muestra en la misma jeringa (revisar que se reencapuche correctamente la aguja y enrollar con masking-tape o cinta adhesiva el capuchón) con que se obtuvo para evitar contaminaciones.

a) Punción de Fluidos:

Deben conservarse a temperatura ambiente el líquido cefalorraquídeo, líquido ascítico, líquido pleural y líquido sinovial.

b) Punción de exudados:

- Las muestras de absceso o tejido suave sin drenar, se aspiran con aguja.
- Las muestras de absceso o tejido suave drenado, se aspira con aguja en un punto lejos del sitio drenado o por aspiración del fondo del tejido infectado.

- En caso de absceso abierto se debe tomar 1ml de exudado no expuesto con jeringa estéril. Si el animal está muerto es útil coleccionar un trozo de cápsula.
- En caso de absceso cerrado, si es una necropsia enviarlo completo y con cápsula, si no es posible se envía 1 ml de exudado en jeringa estéril.

5.8. Muestreo de ambientes:

- Para instalaciones y superficies, el diluyente de transporte y la plantilla estéril de muestreo se solicitará al Laboratorio previamente con 96 horas de anticipación.
- Colocar la plantilla (10X10cm) sobre la superficie a muestrear.
- Humedecer el hisopo estéril en la solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
- Con el hisopo inclinado, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Asegurar el hisopado en toda la superficie.
- Colocar el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando o cortando con tijera (previamente esterilizada con alcohol al 70%) la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.
- Las muestras deberán llegar al laboratorio en un lapso no mayor de 24 horas a temperatura de 2 a 8°C,

6. Tipo de Muestra para análisis molecular:

Las muestras apropiadas para la detección de ácidos nucleicos incluyen secreciones y fluidos corporales (secreción nasal, conjuntival, hisopos del tracto genital, orina, leche, semen, saliva, fluido de vesículas o aftas), materia fecal, muestras de sangre y biopsias de piel de animales vivos infectados (antemortem) o tejidos afectados en casos de animales a los cuales se les practicó la necropsia (postmortem). Las muestras colectadas postmortem deben transportarse en refrigeración y ser entregadas al laboratorio lo antes posible. Las muestras deben almacenarse a 4°C por un máximo de 48 horas. De lo contrario utilizar temperaturas de -20°C o -70°C (excepto las muestras de sangre completa).

La colección de muestras antemortem (animales vivos) se debe efectuar en animales enfermos, teniendo como base las manifestaciones clínicas de la enfermedad que se desea estudiar.

Las muestras de sangre completa deben obtenerse con anticoagulante EDTA.

7. Requisitos mínimos para el empaque y transporte de muestras: principio del triple embalaje.

El propósito del embalaje adecuado es proteger las muestras de las condiciones de temperatura extremas (congelación y/o calor excesivo), y proteger a las personas que entren en contacto con el paquete, de la exposición a los agentes infecciosos. Por esta razón, se considera muy importante prevenir la salida de líquidos (goteo) de los recipientes y las cajas o hieleras de duroport que contengan las muestras.

7.1. Contenedor primario

Es el recipiente que está en contacto directo con la muestra y la contiene. Por ejemplo, son los tubos, viales o bolsas estériles que contienen la muestra. Deben estar libres de objetos punzantes (como vacutainers con aguja u hojas de bisturí).

7.2. Embalaje secundario

En un embalaje secundario pueden introducirse varios recipientes primarios protegidos, el cual puede ser una bolsa ziploc ,bolsa de nylon o una lata de leche en polvo pequeña que proteja el recipiente primario.

7.3. Embalaje terciario

Es un embalaje exterior (hielera), que contiene refrigerante sintético en gel con material amortiguador adecuado. Durante el transporte, el embalaje exterior protege el contenido frente al exterior, por ejemplo, de daños físicos.

8. Proceso de envío por medio de encomienda al laboratorio:

- El usuario debe coordinar con la empresa de transporte (para el caso de paquetería) y el destinatario (Laboratorio) asegurando que las muestras enviadas lleguen en el día y hora programada. Se debe considerar los días inhábiles o fines de semana.
- Las muestras deben enviarse junto al formato de Solicitud de análisis (**LSA-FO-014**), llenado según lo indicado en la Guía informativa del usuario, anexo 4.1 (**LSA-GUI-001**) y ubicado en la parte exterior de la hielera asegurando su integridad y confidencialidad.

- Toda muestra debe enviarse dentro de una hielera que contenga hielo seco o refrigerante sintético suficiente para mantener una temperatura adecuada de refrigeración (4-8°C). Con excepción de las muestras de fluidos (líquido cefalorraquídeo, ascítico, etc.) y medios de transporte (Stuart, Aimes, Solución salina 0.85%, rappaport o tetracionato)
- Se debe consignar la siguiente rotulación afuera de la hielera:
 1. Nombre del remitente
 2. País de origen
 3. Fecha de envío
 4. Nombre de la persona contacto del laboratorio
 5. Dirección del laboratorio

9. Criterios del Laboratorio para rechazo de muestras:

- Muestras serológicas hemolizadas
- Muestras sanguíneas en tubos no aptos para los análisis solicitados.
Ver Anexo 4
- Muestra con cantidad insuficiente para el análisis solicitado.
- Muestras con el tiempo de envío no adecuado, según el análisis a solicitar.
- Muestras sin identificación o con identificación inapropiada o ilegible.
- Muestras serológicas en tubos contaminados con heces de animales, lodo, etc.
- Muestras sin medio de transporte adecuado, según el análisis a solicitar.
- Muestras derramadas o con su empaque primario roto.
- Muestras para aislamiento bacteriológico en congelación o con contaminantes externos (pelos de animal, lodo, tierra, grama, etc.).
- Muestras de órganos mezclados con otros órganos. (Ejemplo: muestras de cerebro mezclado con otro tipo de órgano).
- Muestras de tejido cerebral que se envíen en refrigeración con bolsas de agua congelada.
- Muestras de tallo cerebral provenientes de animales menores de 23 meses de edad (Para EBB).
- Muestras microbiológicas en empaque primario no estéril (muestras en bolsas de nylon, etc.).
- Muestras de fluidos o exudados que no se envíen con la aguja reencapuchada correctamente.
- Muestras que no cumplan con la cadena fría durante su transporte al Laboratorio.
- Muestras en estado de descomposición o putrefacción.
- Muestras no aptas para el diagnóstico solicitado.

10. Anexo

Anexo No.1: Muestra de encéfalo, región del obex (marcada en un rectángulo rojo)



Encefalopatías Espongiformes Transmisibles.

Cerebro. El rectángulo rojo indica la región del obex que es la porción del cerebro que se debe obtener para hacer el diagnóstico de EET y otras encefalopatías tales como scrapie y enfermedad debilitante crónica (EDC).

Crédito: Dr. S. Sorden, ISU, CVM, VPTH

Anexo No. 2: Tabla de envío de muestras para análisis microbiológico

Tipo de muestras	Tipo de empaque primario	Temperatura de transporte	Tiempo máximo de envío
Tejido y heces	Bolsas o frascos estériles	2 a 8 °C	0 a 48 horas**
Hisopados anales o cloacales	En solución salina 0.85% o caldo tetrionato o rappaport	2 a 8 °C	0 a 48 horas**
Hisopados anales o cloacales	Medios de transporte	A temperatura ambiente	0 a 72 horas
Exudado	* En las misma jeringa que se extrajo la muestra	2 a 8 °C	0 a 48 horas
Fluido	* En las misma jeringa que se extrajo la muestra	A temperatura ambiente	0 a 48 horas
Hisopados de piel y exudados	Medios de transporte	A temperatura ambiente	0 a 72 horas
Hisopados de piel y exudados	Solución salina 0.85%	2 a 8 °C	0 a 48 horas
Panal	Empaque con papel Kraft	2 a 8 °C	7 días

Anexo No.3: Bolsas estériles, medios de transporte y caldo de enriquecimiento para análisis microbiológico.



Bolsa Whirl-pack



Medio de transporte



**Caldo Rappaport
Caldo de enriquecimiento**

*Fotografías obtenidas del buscador Google.com

Anexo 4: Tubos adecuados para análisis de muestras sanguíneas

TUBOS PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE					
EXÁMENES	PRODUCTO FINAL	PREPARACIÓN	TUBOS		
Aislamiento Biología Molecular	Sangre total Plasma Anillo de leucocitos	Centrifugado	 Tapa lila	EDTA K2 DIPOTÁSICO	TUBOS CON ANTICOAGULANTE
Aislamiento Biología Molecular	Sangre total Plasma Anillo de leucocitos	Centrifugado Máximo hasta 2 horas después de extracción	 Tapa blanca	EDTA K2 DIPOTÁSICO CON GEL SEPARADOR	
Exámenes Bioquímicos y toxicológicos	Sangre total Plasma	Centrifugación	 Tapa verde	HEPARINA	
Identificación de anticuerpos	Coágulo Suero	Reposo 30 a 60 min.	 Tapa roja	TUBO SILICONADO	TUBOS SIN ANTICOAGULANTE
Identificación de anticuerpos	Coágulo Suero separado por Gel	Centrifugado (1500-2000g/10min), mínimo 30 minutos y máximo 2 horas después de extracción	 Tapa amarilla	TUBO SILICONADO CON GEL SEPARADOR	

Tomado del Manual Veterinario de Toma de Muestra y Envío de Muestra, PANAFTOSA, 2017.

***** FIN DEL DOCUMENTO *****