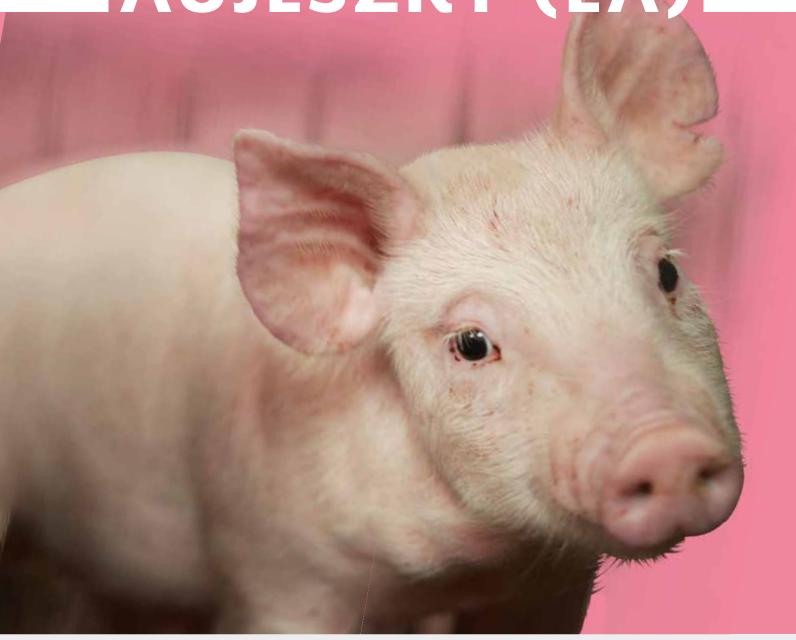


MANUAL DE OBTENCIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE

AUJESZKY (EA)



**SENASICA** nos protege a todos





#### MANUAL DE OBTENCIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE

### **AUJESZKY (EA)**



# INTRODUCCIÓN

Este manual está dirigido al personal técnico de campo encargado de la operación del programa de vigilancia epidemiológica activa de las enfermedades porcinas.

Los procedimientos contenidos en este documento han sido aprobados por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) únicamente para la obtención de muestras para la vigilancia epidemiológica activa de la Enfermedad de Aujeszky (EA).



# OBJETIVO

Describir los procedimientos y requisitos para la obtención y envío de muestras necesarias en la vigilancia epidemiológica activa de la EA.



## CONSIDERACIONES GENERALES

- El muestreo se llevará a cabo en unidades de producción, traspatios en los que se críen cerdos y rastros.
- Las muestras deben provenir en primera instancia de la mortalidad del día, en segundo lugar de cerdos con retraso en el crecimiento (redrojos), pobre condición corporal, y al final de las hembras menores a tres partos.
- Es importante contar con un protocolo de bioseguridad previo al ingreso a la unidad de producción y al salir de ésta; además de respetar los protocolos establecidos por la Unidad de Producción Pecuaria (UPP).
- Las muestras deben ingresar al laboratorio a más tardar cinco días posteriores a su colecta.
- Procure utilizar equipo de protección personal adecuado para evitar lesiones en espalda, rodillas y oídos, esta última lesión puede ser provocada por las vocalizaciones de los cerdos.
- En rastros, será necesario coordinar la obtención de muestras con el MVZ encargado de la línea de sacrificio.
- La obtención de órganos debe realizarse en lugares que puedan ser lavados, desinfectados y donde el piso no permita filtraciones.
- Recuerde registrar las coordenadas de geoposición a la entrada de la UPP.
- Las muestras que no cumplan con las especificaciones contenidas en el presente manual, se declararan como no aptas y no serán procesadas.

#### Otros criterios de desecho:

- 1. Cuando el empaque que contenga las muestras presente rupturas.
- 2. Cuando las muestras presenten otro producto diferente al solicitado.
- 3. Cuando los tubos presenten derrames en su contenido.
- 4. Cuando la identificación de las muestras sea ilegible o se borre por un mal embalaje.
- 5. Cuando las muestras se encuentren en estado de descomposición o con contaminación evidente de microorganismos.
- 6. Cuando las bolsas con órganos contengan muestras de más de un propietario.

## MATERIAL

Antes de comenzar con el muestreo, es importante que el técnico responsable verifique que cuenta con la cantidad suficiente de los materiales listados a continuación:

- Lazatrompas.
- Agujas tipo vacutainer® calibre 19-21.
- Tubos tipo vacutainer® sin anticoagulante.
- Tubos tipo Eppendorf® 1.5 ml.
- Guantes de látex o nitrilo.
- · Cubre bocas.
- Refrigerantes en gel.
- Hielera de plástico.
- Gradilla.
- Plumón de tinta indeleble.
- Plástico tipo Kleen pack.
- · Pipetas desechables.
- Torundas impregnadas con alcohol al 70%.
- · Cuchillo para necropsias.
- Tijeras de disección.
- Pinzas de disección.
- Bolsas pequeñas (tipo ziploc).
- Cinta canela o ancha.
- GPS.



## OBTENCIÓN DE MUESTRAS

#### Obtención de sueros

1. Para la sujeción efectiva del animal se sugiere utilizar un lazatrompas (Figura 1).



- 2. Limpie y desinfecte la piel del cerdo a la altura de la vena yugular, utilice una torunda impregnada con alcohol al 70%.
- 3. Localice la vena yugular e introduzca la aguja vacutainer® con el bisel hacia arriba (Figura 2).



4. Coloque el tubo sin anticoagulante y extraiga de 3 a 5 ml de sangre. Procure que la sangre se deslice por las paredes del tubo, lo cual ayudará a impedir la lisis de los eritrocitos. Al finalizar retire la aguja y proporcione un masaje en la zona de punción para evitar la formación de un hematoma.

Es recomendable mantener las muestras a temperatura ambiente y protegidas de la luz solar hasta llegar al laboratorio o lugar autorizado para realizar la separación del suero.

- 5. La muestra contenida en el tubo tipo vacutainer® sin anticoagulante debe ser procesada para separar el suero con ayuda de un equipo de centrifugación, el tiempo estimado para separar el suero es de 5 minutos a 2000 rpm.
- 6. Una vez separado el suero, utilice una pipeta desechable por cada muestra para extraer el suero del tubo tipo vacutainer<sup>®</sup>. Deposite el suero extraído en un tubo tipo Eppendorf<sup>®</sup>.
- 7. La apariencia de la muestra de suero debe presentar un color amarillo claro; no envíe al laboratorio muestras con hemólisis.
- 8. El tubo tipo vacutainer® sin anticoagulante (tapón rojo) puede ser sustituido por el tubo con gel separador (tapón oro) con la finalidad de facilitar la separación del suero.

#### Obtención de órganos

Se debe obtener las tonsilas palatinas en la UPP (mortalidad diaria), así como en los rastros, mediante el siguiente procedimiento:

- 1. Con ayuda del cuchillo para necropsia, separe la lengua de su inserción con la mandíbula.
- 2. Corte el cartílago hioides y separe la musculatura ubicada a cada lado de la lengua.
- 3. Diseccione la laringe, la tráquea y el esófago hasta su entrada al tórax, una vez que se encuentre en este punto, retraiga las vísceras trabajadas para exponer las tonsilas (Figura 3).
- 4. Con las pinzas de disección con dientes de ratón, sujete la tonsila o nódulo linfático (no confundir con glándulas salivales) y sepárela utilizando las tijeras.





5. Durante el muestreo en rastros, coloque las muestras obtenidas a partir de 5 animales (5 tonsilas) provenientes de un mismo lote o UPP en la bolsa estéril y selle la bolsa utilizando el cierre hermético de la misma (Figura 5).



Figura 5. Agrupación de tonsilas palatinas por propietario

6. Las muestras deben mantenerse en refrigeración hasta su envío al laboratorio.

#### Consideraciones para la obtención de muestras en rastros

Por ningún motivo mezcle muestras de diferentes propietarios o rastro para completar la cantidad de muestras requerida.



### IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

#### Muestras de sueros

Las muestras de suero contenidas en tubos tipo Eppendorf® deberán identificarse de la siguiente forma:

- 1. Cada tubo debe ser identificado con plumón indeleble anotando la numeración de forma consecutiva.
- 2. Se debe incluir en un listado anexo debidamente protegido de la humedad por una bolsa plástica, la relación de las siglas del estado, el número de la granja muestreada (asignado por el personal del Organismo Auxiliar de Salud Animal y comunicado a la CPA) y el número de las muestras (muestra 1 de 30) como se observa en el siguiente ejemplo:

AGS-01-11/30 = Aguascalientes. Granja 1. Muestra 11 de 30.

- 3. Los tubos identificados se deben acomodar en una gradilla de plástico o unicel (Figura 7) y colocarlos dentro de una hielera.
- 4. Cada muestra de suero será procesada en forma individual para su diagnóstico por la técnica de ELISA (Gp-B).
- 5. Las gradillas con muestras de suero ya ordenadas, se deben sellar con plástico tipo Kleen pack® para evitar que el tubo se abra y la muestra se pierda.



6. No olvide colocar dentro de la caja la documentación que indique: la clave de identificación de la granja, nombre del estado, número de muestras (sueros) y fecha de la toma de muestras, así como la información sobre el propietario de los animales y el responsable el muestreo, esta documentación debe protegerse colocándola dentro de una bolsa plástica sellada herméticamente para evitar perdida de datos.



#### Muestras de órganos

Los órganos contenidos en las bolsas deberán identificarse de la siguiente forma:

1. Cada bolsa debe ser rotulada con plumón indeleble anotando las siglas del estado, el número de la granja o rastro muestreado (asignado por el personal del Organismo Auxiliar de Salud Animal y comunicado a la CPA) y el número de la muestra (muestra 1 a 5 de 30) como en el siguiente ejemplo:

AGS-01-01-1-5/30 = Aguascalientes. Rastro 1. Lote 1. Muestra 1 a la 5 de 30 (el número de lote cambia conforme al muestreo mensual 1 al 12).

2. Las bolsas identificadas se deben acomodar dentro de una hielera (Figura 8).



# ENVÍO DE MUESTRAS

Una vez introducidas las muestras dentro de la hielera (identificadas y protegidas), se coloca el material refrigerante.

Para el mantenimiento de los sueros es posible utilizar hielo natural, hielo seco o refrigerante en gel como medios para favorecer el mantenimiento correcto de la temperatura durante el envío. Para los órganos únicamente se permite el uso de refrigerantes en gel (considere la cantidad de refrigerantes en función del tiempo y la distancia).

La totalidad de las muestras recolectadas debe enviarse utilizando un sistema de empaque en doble caja. La caja interna debe ser de unicel, debido a que es un material aislante de temperatura externa. La caja se debe cerrar herméticamente con cinta adhesiva.

La caja externa se cierra de tal manera que todas las esquinas y/o tapas queden selladas con cinta adhesiva (esto aumenta la resistencia del recipiente y garantiza el aislamiento de las muestras).

En la parte superior de la caja debe colocarse la etiqueta que indique el remitente y el destinatario (Figura 9).

Las muestras deben llegar al área de recepción de los laboratorios regionales de la CPA, en un horario de 9:00 a 18:00 horas de lunes a jueves.



# ANEXOS

En los anexos se muestran algunos de los escenarios con los que se puede encontrar a la hora de realizar el muestreo y qué hacer en cada uno de ellos.

#### **Escenario 1**

Rastro municipal	Fecha de toma	Fecha de envío	Municipio de origen	Localidad	Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		Identificacion	ldentificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	1	10000
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	2	10000
Rastro 1	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	3	10000
Rastio 1	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	4	10000
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	5	10000
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	6	10000
										·	30	6		

En el escenario 1 se presenta un solo propietario al rastro; el cual lleva 30 cerdos o más para sacrificio, por lo que se deben generar 6 pools, cada uno integrado por 5 órganos.

#### **Escenario 2**

Rastro municipal	Fecha de toma	Fecha de envío	Municipio de origen	Localidad	Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		laentificacion	Identificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	1	10000
	02-ene	02-ene				LUIS GÓMEZ					5	1	2	11000
Rastro 1	02-ene	02-ene				ELIA ESTRADA					5	1	3	11000
Rastro 1	03-ene	03-ene				PEDRO López					5	1	4	25000
	03-ene	03-ene				LUISA DÍAZ					5	1	5	25000
	03-ene	03-ene				ARTURO RUIZ					5	1	6	25000
											30	6		

En el escenario 2 se presentan 6 propietarios en el rastro y cada uno lleva 5 cerdos o más para sacrificio, por lo que se deben generar 6 pools (uno para cada propietario), cada uno integrado por 5 órganos.

#### **Escenario 3**

Rastro municipal	Fecha de toma	Fecha de envío	Municipio de origen	Localidad	Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		laentificacion	ldentificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	1	10000
	02-ene	02-ene				LUIS GÓMEZ					3	1	2	11000
Rastro 1	02-ene	02-ene				ELIA ESTRADA					2	1	3	11000
Rastro 1	03-ene	03-ene				PEDRO López					1	1	4	25000
	03-ene	03-ene				LUISA DÍAZ					2	1	5	25000
	03-ene	03-ene				ARTURO RUÍZ					3	1	6	25000
											16	6		

En el escenario 3 se presentan 6 propietarios en el rastro y llevan números variables de animales a sacrificio, por lo que deben generar 6 pools (uno para cada propietario), cada uno integrado por un máximo de 5 órganos. En caso de que se presenten pools de menos de 5 órganos, no habrá necesidad de reponer las muestras faltantes para el cumplimiento del programa de trabajo, ya que técnicamente se cuenta con una mayor cobertura de unidades epidemiológicas de origen, en lugar de que las muestras provengan de una sola unidad de producción.

Por ningún motivo se deberá integrar un pool con muestras de dos o más propietarios, cada pool debe integrarse por los cerdos de un solo propietario.

#### **Escenario 4**

Rastro municipal			Municipio de origen		Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		lidentificacion	Identificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene				JUAN PÉREZ					5	1	1	10000
	02-ene	02-ene				LUIS GÓMEZ					3	1	2	11000
Dostro 1	02-ene	02-ene				ELIA ESTRADA					2	1	3	11000
Rastro 1	03-ene	03-ene				PEDRO López					1	1	4	25000
	03-ene	03-ene				LUISA DÍAZ					2	1	5	25000
	03-ene	03-ene		·		ARTURO RUIZ					3	1	6	25000
											16	6		

Rastro municipal			Municipio de origen	Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		laentificacion	Identificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene			TOMÁS LARA					1	1	7	10000
	02-ene	02-ene			LORENA DÍAZ					5	1	8	11000
Rastro 2	02-ene	02-ene			MIRIAM CANO					2	1	9	11000
Rustro 2	03-ene	03-ene			EVA CRUZ					3	1	10	25000
	03-ene	03-ene			DANIEL PÉREZ					2	1	11	25000
	03-ene	03-ene			ISABEL MEDINA					1	1	12	25000
										14	6		

En el escenario 4 se colectan muestras correspondientes a 6 propietarios por rastro, generándose 6 pools para diagnóstico acorde al tamaño de muestra (TM).

#### **Escenario 5**

Rastro municipal			Municipio de origen	Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		ldentificación de pool's	Identificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene			JUAN PÉREZ					5	1	1	10000
	02-ene	02-ene			LUIS GÓMEZ					3	1	2	11000
	02-ene	02-ene			ELIA ESTRADA					2	1	3	11000
Rastro 1	03-ene	03-ene			PEDRO López					1	1	4	25000
	03-ene	03-ene			LUISA DÍAZ					2	1	5	25000
	03-ene	03-ene			CARLOS					4	1	6	25000
	03-ene	03-ene			EVA CRUZ					3	1	7	25000
	03-ene	03-ene			ARTURO RUIZ					3	1	8	25000
				 						23	8		

Rastro municipal			Municipio de origen		Domicilio	Propietario	Especie	Raza	Sexo	*Edad	N° de muestras		laentificacion	Identificación (guía de tránsito)
	01-ene	01-ene				TOMAS LARA					1	1	9	10000
Destar 2	02-ene	02-ene				LORENA DÍAZ					5	1	10	11000
Rastro 2	03-ene	03-ene				MIRIAM CANO					2	1	11	15000
	03-ene	03-ene				DANIEL PÉREZ					2	1	12	98000
											10	4		

En el escenario 5 se colectaron 8 pools en el rastro 1, y 4 pools en el rastro 2, incumpliendo con el TM.

De ninguna forma se deberá colectar más o menos pools de los 6 solicitados por rastro, tampoco se deberá compensar con pools de otros rastros. Se debe respetar los 6 pools por rastro bajo cualquier escenario descrito



#### Dudas sobre:

- Campañas Fito o Zoosanitarias
  - Movilización de Productos Agroalimentarios y Mascotas

01 800 987 9879

Quejas • Denuncias Órgano Interno de Control en el SENASICA

+52(55) 5905 1000, ext. 51648 +52(55) 3871 8300, ext. 20385

www.gob.mx/sagarpa

www.gob.mx/senasica







"Este programa es público, ajeno a cualquier partido político. Queda prohibido el uso para fines distintos a los establecidos en el programa".