

CONTENIDO

1.	OBJETIVO Y ALCANCE	2
2.	TIPO DE MUESTRA Y ANÁLISIS.....	2
3.	PROCEDIMIENTO	2
3.1.	IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES	2
3.2.	EXTRACCIÓN DE MUESTRAS.....	2
3.2.1.	Muestras de Sangre/Suero.....	3
3.2.2.	Muestras de sangre/plasma para interferón gama	3
3.2.3.	Muestras de Leche	5
3.3.	IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	5
3.4.	ENVASES PARA LAS MUESTRAS.....	5
3.5.	ENVIO DE LAS MUESTRAS	6
3.6.	PROTOCOLO	6

1. OBJETIVO Y ALCANCE

En el presente instructivo se describen los procedimientos para la toma y envío de muestras de bovinos obtenidas en predio, para sangre, suero, plasma y leche en el marco de los Programas Oficiales de erradicación de Brucelosis bovina, Control de Tuberculosis bovina y Certificación de Oficial de Predio Libre bovino.

Está dirigido a los médicos veterinarios oficiales y autorizados por el Servicio, quien serán los responsables del cumplimiento del siguiente instructivo.

2. TIPO DE MUESTRA Y ANÁLISIS

ENFERMEDAD	TIPO DE MUESTRA	ANÁLISIS
Brucelosis (<i>B. abortus</i>)	Suero.	Aglutinación (Rosa de Bengala).
	Leche (pool).	ELISA indirecto.
	Leche (individual).	Cultivo bacteriológico.
Tuberculosis	Suero.	ELISA Indirecto ¹ .
	Sangre (plasma)	Detección Interferón Gamma.
Leucosis enzoótica bovina	Suero (individual o en pool).	-ELISA indirecto. -ELISA de competencia /bloqueo.
	Suero (individual).	-Inmunodifusión en Gel.
	Leche (individual o en pool).	-ELISA de competencia /bloqueo. -ELISA indirecto. -ELISA indirecto de verificación.

3. PROCEDIMIENTO

A continuación se describe el procedimiento para la toma y envío de muestras obtenidas en predios bovinos.

3.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES

Todos los animales deben estar identificados con DIIO y registrados en el SIPEC web.

3.2. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

¹ Y ² Según Instructivo de Clasificación de Estatus TBb, Instructivo de Saneamiento de Predio Infectados TBb e Instructivo de Certificación Oficial de Predios Libres Especie Bovina.

3.2.1. Muestras de Sangre/Suero

- Las muestras de sangre deben ser tomadas con la mayor asepsia posible en la vena coccígea (Foto N°1) o por punción yugular.
- La muestra debe ser colectada con agujas y tubos estériles, siendo ideal su obtención con sistema vacutainer (Foto N°2).
- Para extracción de sangre entera utilice **tubos sin anticoagulante** (tubos con tapa roja).
- Extraer al menos **5 ml** de sangre.
- Inmediatamente, posterior a la extracción de la muestra, el tubo debe ser tapado.
- Dejar a temperatura ambiente (18-25°C), en un ángulo de 45º para permitir la separación del suero.
- Después del reposo, deben almacenarse en cajas isotérmicas con algún gel refrigerante que permita mantener una **temperatura de refrigeración (2-8°C)**, para ser enviadas al laboratorio. En ningún momento someter las muestras de sangre a congelación (si no han sido previamente desuadas).

Para extraer suero ver ***Instructivo técnico para el manejo de muestras de sangre entera, obtención y conservación de suero para el diagnóstico serológico.***

Si no posee infraestructura necesaria para la obtención del suero, enviar la muestra de sangre entera para evitar contaminación.

Foto N° 1: Punción vena coccígea condiciones de campo.



Foto N° 2: Sistema vacutainer, aguja y capacho.



3.2.2. Muestras de sangre/plasma para interferón gama

Toma y Envío de Muestras obtenidas
en Predios Bovinos

- Las muestras de sangre deben ser tomadas con la mayor asepsia posible en la vena coccígea o por punción yugular.
- La muestra debe ser colectada con agujas y tubos estériles, siendo ideal su obtención con sistema vacutainer.
- Para extracción de plasma utilice tubos con Heparina de Litio (tubo tapa verde).
- Extraer al menos **5 ml** de sangre.
- Si utiliza jeringa para la obtención de la muestra de sangre, esta debe ser inmediatamente transferida al tubo con anticoagulante (Heparina de Litio) **sacando la aguja**, e inclinando el tubo para permitir que la sangre se deslice suavemente a través de la pared del tubo (Foto N°3).
- Para que la heparina se mezcle con la muestra de sangre, es necesario invertir el tubo con sangre al menos 5 veces (homogenización), suavemente y sin agitar (Foto N°4).

Importante: este paso es relevante dado que es clave para evitar la lisis celular que inhabilita la muestra.

- Las muestras deben ingresar al laboratorio en un plazo no mayor a las 28 hrs. de haber sido extraídas.

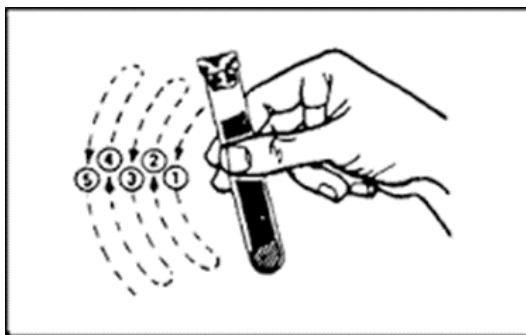
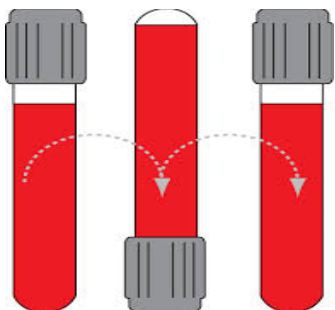
Consideraciones:

- Las muestras deben ser mantenidas a temperatura ambiente entre 18-25°C desde su extracción hasta su envío al laboratorio. En días fríos el tubo puede guardarse en el bolsillo, junto al cuerpo o en el cooler para conservar la temperatura ambiente.
- En ningún caso deben ser refrigeradas.
- Durante el manejo y traslado de las muestras, evitar agitar los tubos para prevenir lisis celular.

Foto N° 3: Traspaso de sangre entera al tubo con heparina de litio.



Foto 4: Giro para homogenizar sangre dentro del tubo.



3.2.3. Muestras de Leche

Para muestra en pool:

- Tomar muestras del estanque usando un tubo limpio y estéril.

Para muestras individuales:

- Limpiar las mamas y el pezón con agua limpia y secar con un papel absorbente.
- Rechazar el primer chorro de cada cuarto.
- Recoger una proporción de leche de cada cuarto y llenar los tubos estériles hasta 5 ml.

Inmediatamente, posterior a la extracción de la muestra, el tubo debe ser tapado.

Deben mantenerse a una temperatura de refrigeración (2-8°C) hasta su envío al laboratorio.

3.3. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los tubos deben ser rotulados y estar libres de cualquier otra identificación que no sea la correspondiente al muestreo que se está realizando. No rotular en las tapas.

Los tubos deben identificarse con un número correlativo a partir del N°1. Los correlativos no deberán discontinuarse. El número correlativo debe coincidir con la columna "Nombre de muestra" del protocolo en el SSA.

El número del DIIO debe ser registrado exclusivamente en el protocolo en el SSA en la sección en "identificación animal". En el caso de muestras de pool de leche, se debe consignar el estanque o contenedor de leche en este campo.

3.4. ENVASES PARA LAS MUESTRAS

Las muestras se deben enviar en los tubos rotulados.

No utilizar como envase jeringas o frascos.

Tanto los tubos como las tapas deberán ser enviados limpios, sin contaminación macroscópica.

3.5. ENVIO DE LAS MUESTRAS

Envase primario: Tubo plástico cerrado (en lo posible evitar vidrio).

Envase secundario: caja de poliestireno expandido (Plumavit o Aislapol) sellada con cinta adhesiva.

Tubos embalados de forma vertical y con papel absorbente alrededor, sujetos entre sí, o a la caja.
Temperatura de ingreso de muestras: Refrigeración (2-8°C).

Las muestras para Interferón Gamma **deben ser mantenidas a temperatura ambiente (18-25°C) desde su extracción** y deben ser enviadas al laboratorio en un plazo **no mayor a 28 hrs** desde su obtención. Debe consignarse en el protocolo la hora de la toma de muestra (en comentarios).

Las muestras que deben ser enviadas antes de los 7 días desde su extracción, son las siguientes:

- Muestras de sangre entera refrigeradas.
- Muestras de leche refrigeradas.

Las muestras que pueden ser enviadas hasta un plazo máximo de 20 días de haber sido extraídas, son las siguientes:

- Muestras de suero sanguíneo almacenadas en congelación.
- Muestras de leche congeladas, **excepto para Leucosis enzoótica bovina** (no está permitido congelar).

Nota: El laboratorio podrá determinar cómo NO apta para análisis a toda muestra que presente hemólisis o contaminación.

3.6. PROTOCOLO

La información del muestreo debe ser ingresadas en el Sistema de Sanidad Animal del SAG (SSA). El enlace es el siguiente <https://sanidadanimal.sag.gob.cl>

Los protocolos de muestreos deben ser ingresados en **Protocolo oficial**.

En caso de que el muestreo se realice en ferias ganaderas, los protocolos deben ser ingresados en **Pruebas de campo**.

El veterinario SAG o el veterinario autorizado son los responsables de la generación del protocolo y del envío de las muestras al laboratorio.



DOCUMENTO GENERAL

Toma y Envío de Muestras obtenidas en Predios Bovinos

El correcto y completo llenado del Protocolo es una parte fundamental para la posterior interpretación de los resultados del laboratorio y para los correspondientes análisis epidemiológicos. Debido a las eventuales implicancias de los resultados de las muestras, es necesario que todos los datos que se requieren en el protocolo sean llenados completamente y de forma fidedigna.