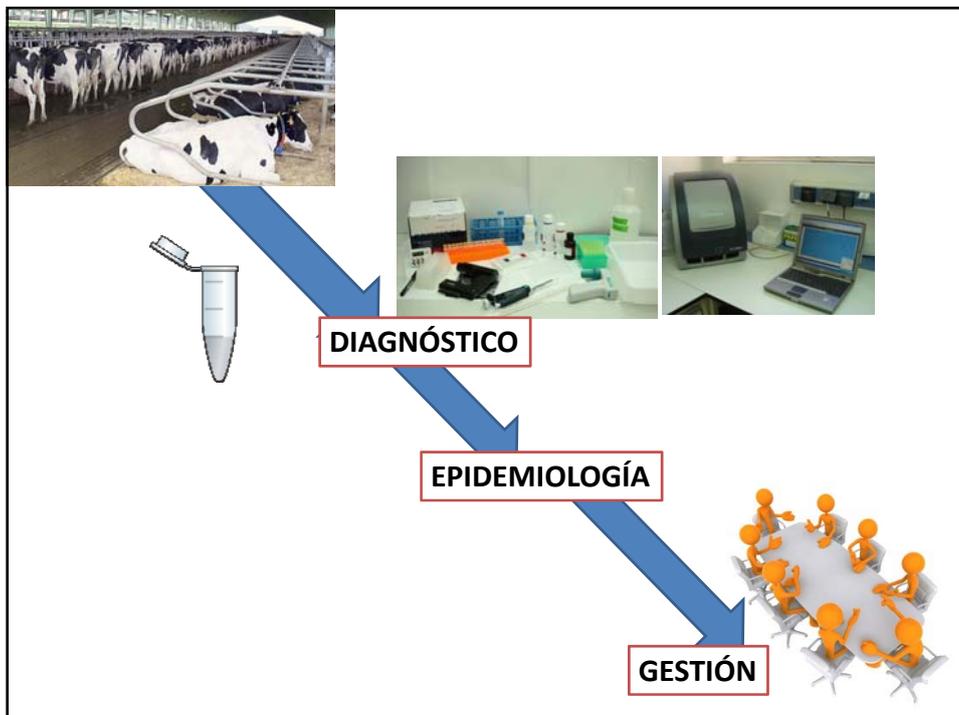




CURSO DE BIOSEGURIDAD INTEGRAL
MADRID, 26-28 Noviembre 2013

Bioseguridad en la recogida y transporte de muestras

Lina Mur
Universidad Complutense de Madrid
linamur@ucm.es



No puede haber un buen diagnóstico sin una buena muestra

Muestras en mal estado, sin identificar, cantidad insuficiente, contaminadas.....

NO SIRVEN →



Una muestra biológica, especialmente de un animal sospechoso, es un peligro potencial

Ej. Concentración del virus PPA en sangre es altísima



MANEJARLAS DE UNA FORMA SEGURA
→ ¡¡¡BIOSEGURIDAD!!!

RECOGIDA DE MUESTRAS



Requisitos de las muestras

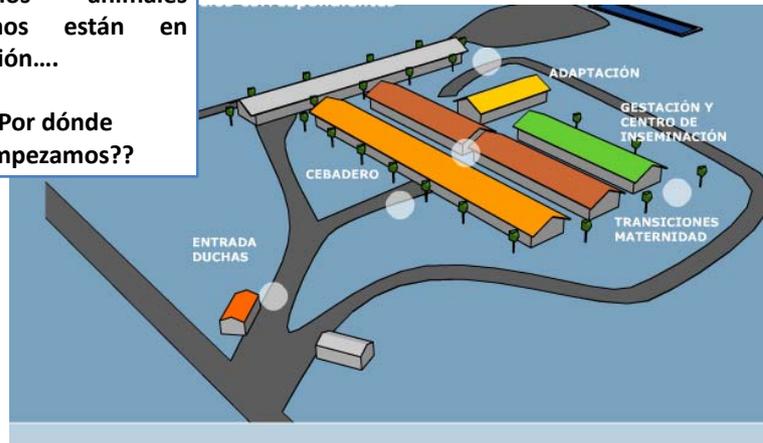
Muestras deben ser las **adecuadas, de calidad y representativas** del proceso. Por ello, antes de empezar debe pensarse:

- Tipo de muestra
- Finalidad del muestreo ↙ sospecha
↘ vigilancia
- Orden muestreo
- Volumen o cantidad necesaria
- Material!!
- Temperatura y condiciones almacenamiento
- Envío??

Orden de muestreo

Si los animales enfermos están en transición....

Por dónde empezamos??



¿Qué muestras?

Manuales prácticos incluyen toda la información detallada:

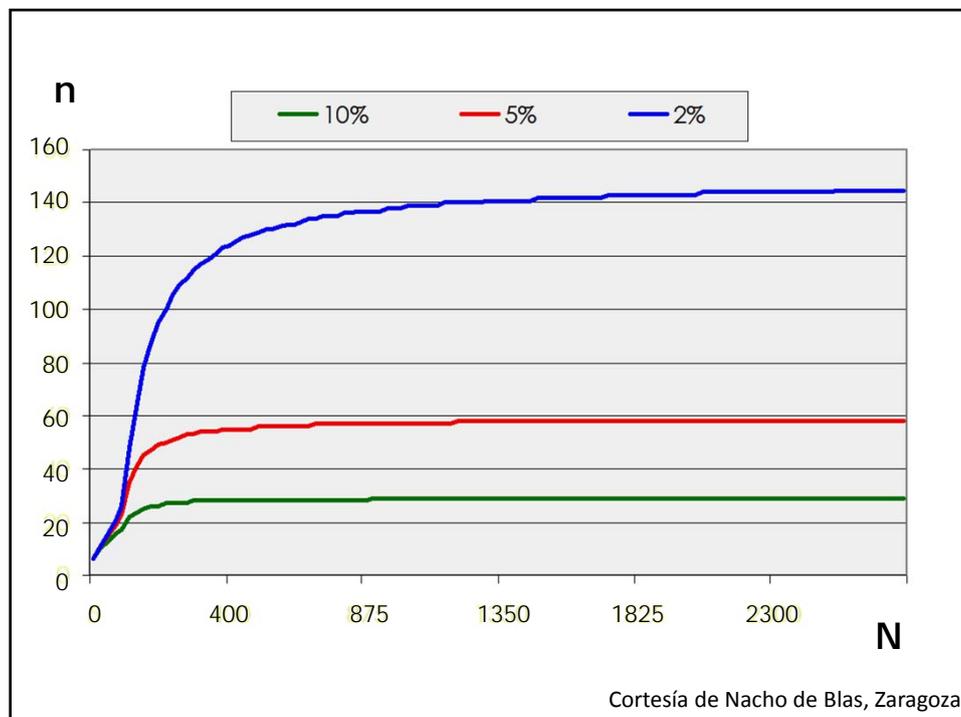
- Sangre (EDTA)
- Suero
- Órganos:
 - ganglios,
 - Bazo
 - Hígado
 - Pulmones
 - Riñón
 - Íleo distal
 - Epitelio
 - Hisopos cloacales
 - Heces



¿Cuántas?

- Número de muestras → función del nivel de confianza y prevalencia esperada

CENSO DE LA EXPLOTACIÓN	CONFIANZA 95% / PREVALENCIA:		
	20%	10%	5%
10	10	10	10
20	10	16	19
30	11	19	26
40	12	21	31
50	12	22	35
60	13	23	38
70	13	24	40
80	13	24	42
90	13	25	43
100	13	25	45
120	13	26	47
140	13	26	48
160	13	27	49
180	13	27	50
200	14	27	51
250	14	27	53



¿Cuántas muestras?

Ej. epidemia PPC en Holanda en 1997

- 15 Enero: primeros síntomas observados--> sospecha de neumonía y uso AB
- 20 Enero: sospecha PRRS. Envío muestras de dos cerdos al laboratorio--> pleuroneumonía necrótica. Ggos de uno de los cerdos enviados a dgo. de PPC por IFA (NEG)
- 30 Enero: nueva visita: envío cerdo muerto para examen postmortem. Se indica muerte de 60 cerdos desde 19 Enero, no sospecha de PPC. Dgo--> muerte por causa intestinal. NO observan bacterias (AB?)
- 1 Febrero(Viernes): envío de dos cerdos más al laboratorio--> analizados el día 3 (lunes): sospecha PPC por lesiones macroscópicas

¿Cuántas?

- Cuánta muestra?
 - Órganos→ mínimo 3 gr, normalmente 5-10 gr de las zonas representativas del proceso
 - Sangre y suero→Vacutainers debidamente rellenos

**CANTIDAD
SUFICIENTE**

MATERIAL NECESARIO

- Envases herméticos (órganos)
- Tubos estériles (con/sin EDTA)
- Agujas
- Cuchillo, bisturí, pinzas, tijeras, eutanásico (material suficiente para necropsia)
- Hisopos
- Medio de transporte en casos específicos (FA epitelio, saliva y fluido vesicular; hisopos en IA)
- Rotuladores resistentes
- Envase secundario
- Envase exterior
- Material refrigerante



¿Qué material debemos meter en la granja?

Buenas prácticas en necropsia

- Selección del lugar adecuado (fácil de limpiar, aislado del resto de animales susceptibles...)
- Plástico o material para recoger sangre....



Buenas prácticas en necropsia



Buenas prácticas en necropsia

- Cambio de material entre animales (contaminaciones)
- Recomendado apagar ventilación asistida
- Uso de insecticidas



Moscas estables (*Stomoxys* spp.) son capaces de transmitir PPAV (hasta 48 horas) en cerdos (Mellor *et al.* 1987).

Transporte de muestras



Transporte de las muestras

Transporte de sustancias infecciosas regulado internacionalmente (OMS, OIE)

→ Categorías de agentes infecciosos

NB: Versión adoptada en la asamblea mundial de delegados de la OIE en mayo de 2013

CAPÍTULO 1.1.2.

TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ORIGEN ANIMAL

¿A qué categoría internacional pertenecen las siguientes enfermedades?

- Peste porcina africana
- Virus ébola
- Tuberculosis bovina
- Gripe aviar
- Fiebre aftosa
- PRRS

TRANSPORTE DE SUSTANCIAS BIOLÓGICAS,

CATEGORÍA A (Nº ONU 2814 HUMANOS O 2900 ANIMALES)

- Una sustancia infecciosa que, es capaz de causar una incapacidad permanente, poner en peligro la vida o constituir una **enfermedad mortal para seres humanos o animales**, hasta entonces con buena salud.
- En casos clasificados como sust.inf. A (solo cultivo) indica que las muestras obtenidas de pacientes no pertenecen a categoría A, sino B.

CATEGORÍA B (Nº ONU 3373)

- Una sustancia infecciosa que no cumple los criterios para su inclusión en la Categoría A
- La mayoría de envíos a laboratorios (no de muestras exentas)
- Los cultivos puros de la mayoría de estos agentes, será clasificado como categoría A

EMBALAJE

Triple embalaje de muestras



EMBALAJE

1. Recipiente interior primario: hermético, estanco.

- Identificado individualmente.
- Sellado con cinta adhesiva
- Embalado para evitar choques



EMBALAJE

2. Envase secundario: hermético, duradero
(bolsa, bote de plástico...)

Con material absorbente



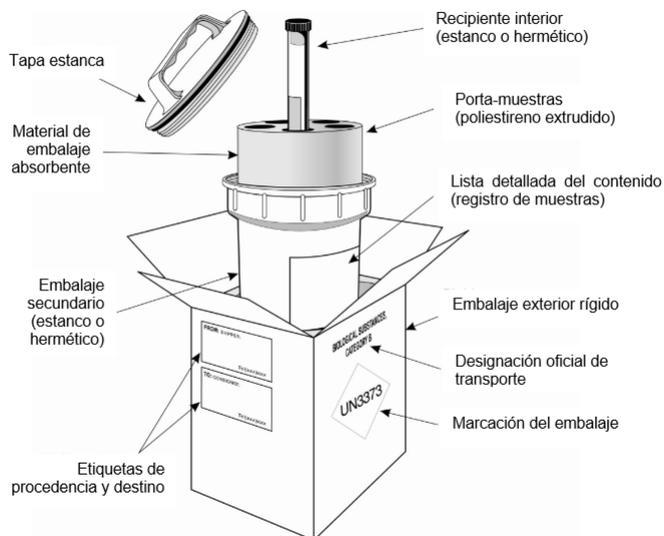
EMBALAJE

3. Envase exterior: protege frente a daños
externos

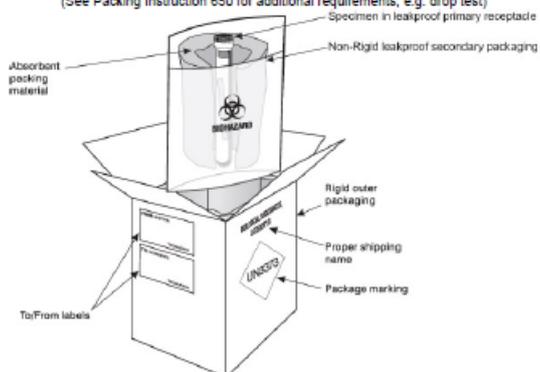
E.j: Nevera con refrigerantes



Ejemplo del sistema de embalaje triple para el embalaje y el etiquetado de sustancias infecciosas de la Categoría B, nº ONU 3373 (Figura cortesía de la IATA, Montreal, Canadá)



ANNEX 4 Example of Packing and Marking for Category B Infectious Substances (See Packing Instruction 650 for additional requirements, e.g. drop test)



Notes:

1. At least one surface of the outer packaging must have a minimum dimension of 100 mm x 100 mm;
2. The primary receptacle or the secondary packaging must be capable of withstanding, without leakage, an internal pressure producing a pressure differential of not less than 95 kPa.

Qué debemos evitar.....



Qué debemos evitar.....



Qué debemos evitar.....



Temperatura



- **Refrigeración (4°C):** la mayoría de muestras si se envían **dentro de las 72 horas** posteriores a la recogida de las mismas.
 - Incluir refrigerantes.
 - Recomendado caja cartón exterior
 - **Congelado:** cuando el transporte requiera más de 72 horas.
 - No congelar nunca: sangre completa ni suero con coágulo
 - Sujetar el envase (se mueve al desaparecer el hielo seco)
- ***Hielo seco!!!**
- Embalaje adecuado.
 - Nunca dentro de recipientes estancos
 - Marcado adecuadamente: Dióxido de carbono, sólido” o “Hielo seco”

Etiquetado de la caja

1. Nombre y dirección completa del remitente.
2. Dirección del Laboratorio de destino.
3. Etiqueta de **MATERIAL BIOLÓGICO. CATEGORÍA B**
4. Etiqueta de “Material infeccioso para animales. Frágil.
5. Etiqueta de hielo seco (si fuera necesario).
6. Etiqueta de “Consérvese a 4º C” o “Consérvese a – 80º C”.



+ INFORMACIÓN MUESTRAS



Biological substance, Category B

Información a remitir

- **Listado completo de las muestras** remitidas con información clara sobre la edad, categoría y explotación de origen de los cerdos de que procedan las muestras, así como su ubicación en la explotación
- Nombre y dirección completa del propietario de los animales.
- **Enfermedad** de la que se sospecha.
- **Especies** animales presentes en la explotación y la duración de su estancia.
- Incorporación y fecha de animales o especies nuevas en la explotación.
- Fecha de los primeros síntomas.
- Distribución de la enfermedad en la explotación: número, edad y sexo de los animales afectados. Número de casos.
- Descripción de síntomas y lesiones si las hubiere.
- Tipo de alojamiento y sistema de producción.
- Medicación y vacunaciones administradas.

DOCUMENTACIÓN DENTRO Y FUERA DE LA CAJA

Aviso al laboratorio

Todo envío de muestras debe venir acompañado de una **SOLICITUD OFICIAL DE ANÁLISIS**

Necesario informar de que se realiza el envío....

tel.: 91 347.92.56/57

Fax: +34 91 347 37 78



Indicando información detallada:

- Tipo y número de muestras,
- Enfermedad a examinar
- Medio transporte
- Hora y día previsto de llegada muestras

Laboratorio Central de Veterinaria de Algete

Ctra. Algete, km 8

28110 Algete (Madrid)

ESPAÑA

91 347 92 56/57 (LCV) (Horario 8-15h)

91 347 92 59 (Vigilancia del LCV) (24 horas)

Fax: +34 91 347 37 78

Email: lcv@magrama.es

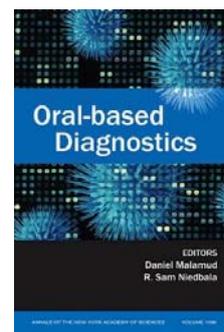
OTROS ENVÍOS...

Ejemplo: vectores para vigilancia LA

- Filtrado de las capturas en botes con alcohol al 70%
- Cerrados adecuadamente
- Cerrar con para-film
- Bolsa de plástico hermético
- Doble etiquetado escrito con lápiz (rotulador con alcohol se borra)

FLUIDO ORAL EN EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....

- Mucha investigación en humanos (1909 - 2009) con enfoque primario en detección de anticuerpos
- Ampliamente usado en monitoreo de poblaciones
 - Especialmente VIH
 - Extensos estudios “mail-in”
 - Muestras enviadas por correo = mucha información barata



Poco empleada en medicina veterinaria hasta hace muy poco

FLUIDO ORAL EN EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....

- A día de hoy ampliamente utilizada en el monitoreo de enfermedades porcinas (**PRRS, PCV-2, Influenza...**)
- Numerosos estudios están siendo llevados a cabo para la estandarización del diagnóstico en estas enfermedades mediante fluido oral



FLUIDO ORAL EN EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....

- Las técnicas de diagnóstico para **PPA** están siendo optimizados para fluido oral.
- Buenos resultados en ELISA en condiciones experimentales (Mur et al., 2013)



FLUIDO ORAL EN EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....

- Así como en campo (PPA en Cerdeña)



MVI_6714.MOV

VENTAJAS del fluido oral en vigilancia de enfermedades porcinas

1. Permite la evaluación del estado sanitario de una población de forma rápida y sencilla
2. Permite estudiar patrones de infección y/o efectividad de vacunas de forma conjunta en la población
3. Reduce los riesgos derivados de la toma de sangre
4. Reduce el personal, material, tiempo y coste necesario para el muestreo de los animales
5. Respeta el bienestar animal

Idóneo para programas de vigilancia y control de enfermedades



Conclusiones...

- Una buena muestra (representativa, adecuada y en buenas condiciones) es fundamental para lograr un buen diagnóstico.
- La recogida y envío de muestras supone un riesgo que debemos considerar e intentar reducir al mínimo.
- Contamos con procedimientos y materiales que nos permiten reducir este riesgo.
- El uso de un material adecuado de forma adecuada es fundamental.

Muchas gracias por su atención



www.sanidadanimal.info

linamur@ucm.es