

 CHILE CARNE	INSTRUCTIVO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN CERDOS		Cod: DT-10.05.21-MAH-V.1
	<i>Programa de Buena Salud en la Industria de las Carnes Blancas</i>		10-mayo-2021
Elaborado por: Departamento Técnico		Revisado por: Gerencia Técnica	Aprobado por: Gerencia Técnica

1. OBJETIVO

Diversos factores pueden influir en la obtención de un diagnóstico microbiológico apropiado. Entre estos factores se encuentra la calidad de la muestra, que incluye su obtención, mantención y transporte. Un fallo en cualquiera de estas fases puede llevar a un diagnóstico errado o a la pérdida de viabilidad de la muestra.

Este documento define las pautas e información básica para la obtención de muestras para análisis microbiológico considerando los agentes bacterianos de interés, las patologías que producen en los animales y tomando como guía el procedimiento de “Toma de Muestras para Análisis Microbiológico e Histopatológico” del Grupo de Saneamiento Porcino de España.

2. MATERIALES DE MUESTREO (Proporcionados mediante un KIT de muestreo)

- Cuchillos (reutilizables).
- Bisturí (reutilizable) con hojas estériles.
- Pinzas (reutilizables) sin dientes estériles.
- Tijeras estériles (reutilizables).
- Guantes de látex.
- Desinfectante tópico (alcohol yodado, povidona yodada, clorhexidina o alcohol 95%).
- Frascos estériles sin anticoagulante.
- Tómulas con medio transporte AMIES sin carbón activado.
- Tómulas sin medio de transporte.
- Agujas y jeringas convencionales.
- Caja termoaislante con bolsa protectora.
- Ice packs.
- Cinta de embalaje.

3. ENVIO DE MUESTRAS, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

- Toda muestra obtenida para diagnóstico microbiológico debe ser recibida en el Laboratorio de Diagnóstico de Agentes Infecciosos de FAVET de **lunes a jueves de 9:30h a 16.00h**. Es importante cumplir con el horario establecido para facilitar el diagnóstico rápido y fiable.
- Las muestras **no deben ser enviadas** ni recibidas en el laboratorio **dos días previos a un festivo**.
- Todas las muestras **deben enviarse refrigeradas (entre 2° y 9° C) en cajas termoaislantes con ice packs**. En el exterior de las cajas, en caso de enviar más de una muestra, debe incorporarse algún número o código para poder diferenciarlas. Cuando no sea posible

 CHILE CARNE	INSTRUCTIVO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN CERDOS		Cod: DT-10.05.21-MAH-V.1
	<i>Programa de Buena Salud en la Industria de las Carnes Blancas</i>		10-mayo-2021
Elaborado por: Departamento Técnico		Revisado por: Gerencia Técnica	Aprobado por: Gerencia Técnica

enviar las muestras inmediatamente después de realizada la toma de muestra, éstas deberán ser mantenidas en refrigeración (entre 2° y 4°C).

4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS: GENERALIDADES

- Seleccione animales con signos clínicos y no tratados con antimicrobianos, de ser posible. En caso contrario, se deberá informar el tratamiento con antimicrobianos en el protocolo de muestreo y en la ficha de envío de muestras.
- En caso de animales muertos o sacrificados, se recomienda tomar muestras de forma inmediata. No se recomienda tomar muestras de un cadáver tras 4 horas sin refrigerar, las muestras probablemente estarán contaminadas.
- Obtenga las muestras en condiciones de mayor asepsia posible. Siempre utilice material desinfectado y desinfecte la zona afectada antes de tomar las muestras.
- Utilice recipientes herméticos y estériles individuales para el envío de muestras. Asegúrese de introducir cada órgano en un recipiente por separado.
- Asegúrese de que la muestra no entre en contacto con productos desinfectantes.
- Las muestras **no deben ser congeladas** en ningún momento.
- Las muestras deben ser recibidas en el laboratorio después de 24-48h como máximo desde la toma de la muestra.
- Identifique cada muestra con una etiqueta.

5. PROTOCOLO DE MUESTREO Y FICHA DE ENVIO

- A modo de disminuir el uso de papel y simplificar el llenado del protocolo de toma de muestras y la ficha de envío, se utilizará un documento en formato digital a través de la plataforma de Jotform.
- El enlace del documento es <https://form.jotform.com/212023796488665>
- En el formulario digital se deben indicar los antecedentes de la Empresa, de la(s) muestra(s) y del Médico Veterinario.
- En cada formulario se pueden agregar 10 muestras como máximo.

 CHILE CARNE	INSTRUCTIVO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN CERDOS		Cod: DT-10.05.21-MAH-V.1
	<i>Programa de Buena Salud en la Industria de las Carnes Blancas</i>		10-mayo-2021
	Elaborado por: Departamento Técnico	Revisado por: Gerencia Técnica	Aprobado por: Gerencia Técnica

- Complete el protocolo de muestreo y al finalizar llegara un correo de respaldo.
- El respaldo llegara al correo que se indique la primera pregunta del formulario.
- En el caso de requerir enviar cadáveres, estos deben ser enviados refrigerados y envueltos en una bolsa hermética y caja apropiada. Cuando se trate de animales de gran tamaño, se deberá realizar necropsia en el plantel y enviar los órganos por separado y refrigerados.

6. OBTENCIÓN DE MUESTRAS: SELECCIÓN DE MUESTRA PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

- Para realizar un cultivo microbiológico, la muestra debe ser representativa del caso y cumplir con todas las condiciones mencionadas anteriormente. Según la clínica, las muestras adecuadas serán las siguientes:
 - a. **Patologías digestivas:** *Escherichia coli, Clostridium perfringens.*
 - i. **Intestino:** enviar muestra de la parte afectada del intestino delgado. Se extrae un fragmento de intestino de 3x3 cm realizando dos ligaduras con la ayuda de bridas o similar. Coloque la muestra en un frasco estéril.
 - ii. **Contenido intestinal (mínimo 1 mL):** si el contenido intestinal es líquido, recomendamos aspirar el contenido mediante punción con una jeringa y traspasar a un frasco estéril.
 - iii. **Tómulas con medio AMIES:** recomendado en caso de que el contenido intestinal sea denso y no se pueda extraer con jeringa. Se debe frotar la tórula por 20 segundos en el contenido intestinal para asegurar que se impregne con éste.
 - b. **Patologías respiratorias:** *Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida y Bordetella bronchiseptica.*
 - i. **Pulmones:** enviar una muestra de pulmón que contenga la intersección entre una zona no afectada y afectada. La sección debe tener un tamaño de 5x5 cm aproximadamente (debe llenar casi por completo un frasco). Si los pulmones son pequeños, se podrán enviar enteros.
 - c. **Rinitis atrófica:** *Pasteurella multocida, Bordetella bronchiseptica.*

 CHILE CARNE	INSTRUCTIVO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN CERDOS		Cod: DT-10.05.21-MAH-V.1
	<i>Programa de Buena Salud en la Industria de las Carnes Blancas</i>		10-mayo-2021
	Elaborado por: Departamento Técnico	Revisado por: Gerencia Técnica	Aprobado por: Gerencia Técnica

- i. Tórculas SIN medio AMIES: introducir la tórcula en las narinas y frotar por 20 segundos. Enviar las tórculas (secas) en un periodo no superior a 12 horas.

d. **Meningitis**: *Streptococcus suis*, *Glaesserella parasuis*.

- i. Líquido cefalorraquídeo (mínimo 1 mL): desinfectar la articulación atlantooccipital con un desinfectante tóxico. Aspirar el líquido cefalorraquídeo con jeringas desde la cisterna magna y traspáselo a un frasco estéril.
- ii. Tórcula con medio AMIES: en caso de no poder extraer el líquido cefalorraquídeo, se puede obtener una muestra con una tórcula con medio AMIES introduciéndolo por la abertura del cráneo a nivel de la articulación atlantooccipital. La apertura del cráneo debe ser en forma aséptica con material estéril.
- iii. Líquido sinovial (mínimo 1 mL): desinfectar zona afectada con un desinfectante tóxico y utilizar jeringas para obtener el líquido sinovial. Traspase el contenido al frasco estéril.

Nota: si sospecha de *Glaesserella parasuis*, es muy importante enviar las muestras al laboratorio lo antes posible, 24 horas como máximo. Las muestras más idóneas son: líquido cefalorraquídeo, pericárdico, pleural, zona de intersección peritoneal o sinovial.

e. **Artritis**: *Streptococcus suis*, *Glaesserella parasuis*.

- i. Punción intraarticular: desinfectar la superficie de la zona afectada y obtener una muestra por punción intraarticular. Traspase la muestra a un frasco estéril.
- ii. Tórcula con medio AMIES: si el contenido no es líquido, realizar una incisión y obtener la muestra con un hisopo con medio AMIES. La apertura de la articulación debe ser en forma aséptica con material estéril.

f. **Abscesos cutáneos y epidermitis exudativa**: *Staphylococcus hyicus*.

- i. Hispo con medio AMIES: desinfectar la superficie con un desinfectante tóxico y realice un raspado de una zona de superficie afectada mediante un bisturí estéril. Recoja el contenido en un hisopo con medio AMIES.

 CHILE CARNE	INSTRUCTIVO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN CERDOS		Cod: DT-10.05.21-MAH-V.1
	<i>Programa de Buena Salud en la Industria de las Carnes Blancas</i>		10-mayo-2021
	Elaborado por: Departamento Técnico	Revisado por: Gerencia Técnica	Aprobado por: Gerencia Técnica

- ii. Sección de zona afectada: si a nivel de campo, no es posible realizar un raspado aséptico, recomendamos enviar una sección pequeña (aproximadamente 5 cm) de una zona afectada en un frasco estéril.

Nota: Si se quiere analizar un absceso cutáneo, tomar muestra con hisopo con medio AMIES o enviar una zona afectada de 5 cm.

NOTA: También es posible tomar muestras de corazón, hígado y bazo, según sea el caso, las que deben colocarse en frascos estériles.

7. ENVÍO DE CEPAS

- Cualquier cepa aislada que sea enviada al Laboratorio de Diagnostico de Agentes Infecciosos de FAVET debe cumplir con los siguientes requisitos e indicar:
 - a) Identificación del agente (género y especie, patotipo o serotipo si corresponde)
 - b) Fecha de aislamiento
 - c) Forma de mantención
 - d) Metodología utilizada en identificación
 - e) Especie de procedencia
 - f) Patología asociada
 - g) Pasajes a los que ha sido sometido
- **Toda muestra que no cumpla con estos requisitos será rechazada.**
- Ante cualquier duda contactarse con el Dr. Nicolás Galarce del laboratorio de Diagnóstico de Agentes Infecciosos: ngalarce@ug.uchile.cl / 2 2978 5553.