



**MANUAL DE
PROCEDIMIENTOS
PARA LA TOMA
DE MUESTRAS**
ANTE LA SOSPECHA
DE ENFERMEDAD
EN CERDOS

Autores

Héctor Ramón Sanguinetti
Mariela Monterubbianesi
Sebastián Otero

Colaboradores

María Paula Vidal
Félix Capellino
Rodrigo Balzano

Introducción

Ante la ocurrencia de un cuadro clínico sospechoso de peste porcina clásica (PPC), síndrome respiratorio reproductivo porcino (PRRS) u otra enfermedad exótica, o bien para obtener muestras para realizar el diagnóstico diferencial, es necesario realizar una completa anamnesis, investigación epidemiológica, inspección clínica, correcta recolección y acondicionamiento de las muestras para la confirmación mediante pruebas de laboratorio.

El presente manual tiene como objetivo consolidar las principales condiciones a tener en cuenta al momento de tomar muestras, ya sea de un animal vivo o a partir de una necropsia, durante una investigación de enfermedad en porcinos.

A continuación, se mencionan algunos conceptos generales a tener en cuenta en todos los casos:

- Mantener todas las medidas de bioseguridad y protección personal para evitar la diseminación de patógenos al ambiente y a los operarios.
- Realizar la necropsia sistemática y la toma de muestras según el instructivo, preparando todos los materiales necesarios antes de iniciar la práctica.
- Procurar la eliminación segura de los cadáveres necropsiados y los elementos contaminados.
- Las muestras para laboratorio deben estar correctamente rotuladas, acondicionadas y con el método de conservación que corresponda según muestra y prueba diagnóstica.
- Hay diferentes medios de conservación o acondicionamiento de las muestras que afectan a ciertas pruebas de laboratorio provocando que las muestras sean, finalmente, consideradas inservibles para el diagnóstico.
- Las muestras de sangre y de órganos se colectan en recipientes separados y se identifican con un número correlativo por cada animal.
- En caso de toma de muestras de animales vivos (suero/sangre/tonsila), identificar a los cerdos muestreados con caravana oficial. En la mayoría de los casos, ante resultados dudosos o positivos, es necesario volver a la explotación y ubicar al animal reaccionante.



Foto 1. Algunos de los elementos necesarios para identificar muestras (tubos) y animales muestreados (caravanas).

- La información referente a cada animal y sus respectivas muestras debe registrarse en el protocolo de remisión de muestras, y permitir relacionar tubo con caravana fácilmente.

- El **protocolo de remisión de muestras** se confecciona uno por cada establecimiento. El mismo protocolo debe contener la información de todas las muestras tomadas: tubo/animal, temperatura corporal, signos clínicos si los hubiere, edad, etc.



Foto 2. Los números de los tubos y las caravanas se asientan en el protocolo y permiten ubicar a los animales reaccionantes.

- Los **protocolos de necropsia** se confeccionan uno por cada cerdo.
- Las muestras deben ser conservadas refrigeradas y enviadas al laboratorio dentro de las 48 horas, como máximo; o en su defecto, congeladas tal como indica el presente instructivo.

Anamnesis.

Toma de muestras y selección de animales

Realizar una completa anamnesis con el responsable de los animales.

Iniciar la recorrida por los lotes, corrales y galpones sin novedades sanitarias, dejando para el final aquellos que han presentado signos clínicos de acuerdo a la anamnesis.

Realizar una inspección clínica general, observando comportamiento, signos clínicos, etc.

Tomar la temperatura a 15 ó 20 animales, enfermos o no, del lote problema.

Incluir dentro de la toma de muestras y/o sacrificio para necropsia a aquellos cerdos que presenten temperatura corporal alta (de 39,5 a 42 °C).

Si hay animales enfermos solamente, sacrificar para necropsia, de 3 a 5 cerdos. Preferentemente, elegir un animal que se encuentre en el inicio del cuadro clínico y otro, en su finalización.

Si se dispone de animales muertos, realizar, al menos, tres necropsias, seleccionando a los muertos más recientes.

Cantidad de muestras a tomar

En caso de que no se indique una cantidad de muestras específica, se deben tomar:

Suero: de 60 (sesenta) animales (si hay menos, de todos), incluyendo animales con signos clínicos. En el caso de sospecha de PRRS, son preferidos los animales jóvenes (30 a 110 días).

Sangre entera: (con EDTA) de animales con temperatura corporal alta (de 39,5 a 42 °C) y/o signos clínicos (3 a 5 animales, si hay menos, todos).

Necropsia: de 3 a 5 animales enfermos (sacrificados o recién muertos). Las muestras a extraer durante la necropsia son: sangre entera, suero, tonsilas, pulmón, ganglios linfáticos, bazo, placenta y fetos abortados.

Colecta de muestras de sangre entera y para serología

La toma de muestras de sangre entera o para serología debe realizarse con cuidados y en condiciones mínimas, para lograr obtener y remitir un suero de calidad que permita un correcto diagnóstico y no altere los resultados de los distintos procesos analíticos a que son sometidos en el laboratorio.

Materiales necesarios

Los elementos necesarios para llevar a cabo la extracción de sangre son:

- Lazo para sujeción de cerdos (en caso de reproductores y animales de más de 40 kg).
- Guantes de látex.
- Jeringas descartables de 10 ó 20 ml, graduadas en 0,5 ml.
- Agujas hipodérmicas 18G x 1 1/2".
- Tubo de plástico fondo cónico de 15 ml.
- Viales de plástico de 3 ó 5 ml (tubos Eppendorf).
- Heladera o conservadora con hielo y/o refrigerantes.
- Caravanas oficiales numeradas/ pinza aplicadora.
- Protocolos de remisión de muestras/ biomes.
- Centrífuga.

Condiciones de los tubos

- Deben estar estériles y sin uso previo.
- En caso de tubos reutilizados, deben estar **limpios**, bien enjuagados con agua destilada (sin contener restos de detergentes) y **secos**. Apenas una escasa humedad provoca hemólisis parcial. Secarlos en estufa u horno, tanto los tubos como los tapones.
- Los tubos se **encintan** (cinta de papel adhesiva) o **etiquetan**, para poder ser identificados en el momento del sangrado, con el número

- de orden de sangrado o número de animal correspondiente.
- La escritura con fibra marcadora directamente sobre el vidrio, aunque sea de las indelebles, puede borrarse fácilmente con el manipuleo de los tubos.
- **Nunca identificar los tubos en el tapón.**



Foto 3. Los números de los tubos y las caravanas se asientan en el protocolo y permiten ubicar a los animales reaccionantes.

Procedimiento de extracción

La mejor opción y más recomendable es la extracción por vena cava anterior.

Aunque también, con obtención de muestras de menor calidad, podría realizarse de la vena marginal de la oreja o de la vena de la cola.

Vena cava anterior

- Es fundamental la sujeción correcta del cerdo a sangrar.
- En reproductores y cerdos de más de 40 kg, el sangrado se realiza con el animal en pie, sujetado del maxilar superior mediante lazo especial para cerdos con cable de acero o una soguita de cáñamo o nylon con una argolla chica, para formar un lazo alrededor del maxilar superior. El lazo se coloca detrás de los colmillos, para asegurar que no se suelte el animal cuando tira hacia atrás.



Foto 4. Inmovilización del cerdo adulto.

- En el caso de lechones, el animal puede colocarse en decúbito dorsal sobre el piso o en una mesa o cajón, y una persona debe sujetarlo por sus cuatro miembros, de manera que los dos miembros anteriores queden estirados hacia atrás, mientras que la persona que sangra toma la cabeza por el hocico y lo sujeta para que no se mueva, al mismo tiempo que lo empuja con firmeza hacia abajo. De esta manera, el cuello del animal queda bien estirado.



Foto 5. Sujeción del lechón

- Identificar el tubo que coleccionará la sangre del cerdo que ya está sujetado para el sangrado.
- Registrar la identificación del tubo en la correspondiente planilla de sangrado.
- El sangrado se realiza con aguja metálica de buen filo y bisel.
- Para reproductores y cachorros, se utiliza una aguja de calibre 20 por 50 mm de largo.
- En lechones, se utiliza aguja de calibre 12 ó 15 por 40 mm de largo.
- Para lechones chicos, es conveniente elegir una aguja de menor calibre (8 a 10 mm) y utilizarla con jeringa para hacer aspiración.
- Las agujas que no pueden descartarse, deben ser enjuagadas siempre entre animal y animal sangrado (mediante jeringa adosada), en solución fisiológica bufferada.
- Antes del sangrado, pasar un poco de solución yodada desinfectante sobre la piel, en el lugar de la punción.
- El lugar de la punción es por delante del apéndice traqueliano del esternón, pero hacia un lado, en el hueco que se forma al colocar la punta del dedo índice. Una vez ubicado el lugar de la punción, en el caso de reproductores (con el animal en pie), se toma la aguja por la mitad de su longitud y mediante un movimiento brusco, se debe atravesar la piel del cerdo, que es gruesa y dura (con la debida energía) y luego, orientar la punta de la aguja hacia el codo

del miembro anterior del lado opuesto al del sangrado (la aguja se orienta hacia atrás, arriba y algo hacia el lateral, como buscando el corazón).

- No tener miedo de punzar el corazón pues no ocurre nunca.
- Ir introduciendo la aguja en la orientación indicada hasta sentir que se atraviesa la pared de la vena, cuando se observa que comienza a salir sangre abundante.
- Si no se encuentra la vena, retirar un poco la aguja hacia abajo (o sea, hacia afuera), y volver a buscar la vena haciendo movimientos suaves.
- Cuando comienza a salir sangre, no mover la aguja y coleccionar la sangre en el tubo.
- Esta operación es más fácil si se trabaja con una jeringa de plástico de 5, 10 o 20 cc, colocada en el cono de la aguja de sangrado, para hacer aspiración cuando uno está buscando la vena, así fluye más rápido la sangre. En este caso, la sangre se colecciona primero en la jeringa y luego, **quitando la aguja**, se descarga en el correspondiente tubo de sangrado. Lentamente, sobre la pared del tubo para evitar la hemólisis. En este caso, también enjuagar o cambiar la jeringa.



Foto 6. Punción por vena cava anterior perpendicular al cuello



Foto 7. Punción por vena cava anterior perpendicular al cuello

- No cargar los tubos con sangre, con más de la mitad o 3/4 partes de su capacidad total.
- Colocarlos en posición horizontal, de manera que la sangre coagule a lo largo del tubo. Si es posible, ir colocando los tubos en una cajita de telgopor para que no se enfrien.



Foto 8. Descarga de la jeringa, lentamente por la pared, para evitar hemólisis

- Importante: debe evitarse la exposición a la luz del sol y el sobrecalentamiento a más de 40° C, ya que produce hemólisis.
- Una vez concluido el sangrado, colocar todos los tubos con sangre en lugar tibio entre 37 y 40° C, o mejor aún en un baño María, que puede improvisarse con una caja chica de telgopor donde se colocan todos los tubos en posición vertical, asegurándose de que estén bien tapados para que no ingrese el mínimo de agua. Si no se tiene gradilla, se forman grupos de tubos y se rodea con una o dos bandas elásticas, de modo que queden todos parados dentro de la caja y el agua los bañe a todos por igual, sin caerse. Colocar, dentro de la caja de telgopor, agua tibia a 38 a 40 °C e incubar durante 30 a 45 minutos. Podrá verse cómo se retrae el coágulo fijado a la pared del tubo, y exuda el suero hacia la cavidad libre en el tubo.

Vena de la oreja

- Identificar el tubo que colectará la sangre del cerdo, que ya está sujetado para el sangrado.
- Registrar la identificación del tubo en la correspondiente planilla de sangrado.
- Limpiar la oreja con un trapo **seco**. Si la oreja está húmeda, hay que secarla con trapo, papel o alcohol.
- Frotar el pabellón auricular con un trapo con xilol o alcohol etílico.
- Palmear cuatro o cinco veces el pabellón auricular, a fin de ingurgitar las venas que cruzan la cara externa y el borde del pabellón, para que se hagan visibles.
- Comprimir la base del pabellón auricular, rodeándolo con los dedos de la mano, a fin de evitar el retorno venoso y facilitar el ingurgitado de las venas del pabellón auricular.



Foto 9. Punción en la vena de la oreja.

- Efectuar un corte punzante con una hoja de bisturí o una aguja hipodérmica de acero bien filosa y de calibre 20 mm ó mayor.
- Colectar la sangre que se vierte a través de la punción (como mínimo 4 a 5 cm³), cuidando de no arrastrar restos de epitelio, pelos, tierra y sobre todo, agua. Si la cantidad resulta insuficiente, repetir la operación en otro segmento de la vena, en otra vena o en el otro pabellón auricular.
- Tapar el tubo y depositarlo acostado (en posición horizontal), a fin de que el coágulo de sangre se forme a lo largo del tubo (no importa si toca el tapón, el cual debe ser mantenido limpio durante el sangrado).

Acondicionamiento de la sangre entera y del suero

- La sangre obtenida, ya con el coágulo retraído, se coloca en cajas o gradillas.
- Si se trata de una muestra para virología destinada al aislamiento de PPC o identificación del antígeno, se remite sangre entera.
- En todos los casos, sean sueros o sangre entera, deben ser acompañados por el correspondiente protocolo de remisión de muestras, y los tubos correctamente identificados.
- La obtención del suero se realiza mediante centrifugación y separación por pipeteo o por volteo del tubo, que luego se colecta en tubos de hemólisis o en viales de plástico (Eppendorf por ejemplo), los cuales deberán estar previamente encintados para su correcta identificación.
- El proceso de obtención del suero puede realizarse en la Oficina Local o en el laboratorio, inmediatamente a su ingreso.
- Si la sangre no va a ser separada dentro de unas pocas horas o en ese mismo día, podrá guardarse en heladera. Sin embargo, se debe extraer el suero antes de que transcurran 24 hs desde la obtención de la muestra. Para ello, se recomienda sacar los tubos de la heladera a medida que se van procesando, para evitar que se calienten antes del centrifugado y evitar una mayor hemólisis.
- Cargar los tubos Eppendorf con suero hasta la mitad, o máximo a 3/4 partes de su capacidad total (al congelarse, aumenta significativamente su volumen).
- Salvo indicación contraria, es recomendable remitir el suero al Laboratorio de Diagnóstico (excepto que el sitio de toma de muestras se encuentre muy cerca del laboratorio y la sangre entera se transporte rápidamente).

Biopsia de tosillas

Es un método seguro y fiable para recoger tejido linfoide *antemortem* en el cerdo. Es especialmente válido para los patógenos linfotrópicos, como los virus de peste porcina clásica (PPC), síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) y Aujeszky, entre otros.

Materiales necesarios

Los elementos necesarios para llevar a cabo la biopsia de amígdalas son:

- Lazo para sujeción de cerdos.
- Abrebocas o espéculo.
- Foco de iluminación o frontoluz.
- Pinza de biopsia uterina de humanos (pinza de Tischler o similar).
- Tubo o en viales de plástico (Eppendorf).
- Heladera o conservadora con hielo y/o refrigerantes.

Descripción de la técnica

- Sujetar al animal con un lazo convencional por el maxilar superior.
- Colocar el abreboca y usar el foco para iluminar la parte posterior de la cavidad oral.
- La tonsila se observará ubicada en el paladar blando.
- La pinza de biopsia se inserta a través de la boca del cerdo, perpendicular a la superficie epitelial, para aislar la sección de la amígdala.
- Introducir el extremo cortante de la pinza en toda su profundidad y retirarla posteriormente, junto con el trozo de tejido que conformará la muestra (se sugiere tomar 2 a 3 trozos).
- Es de suma importancia mantener cerradas las pinzas hasta retirarlas de la boca del animal, de forma de no correr riesgo de que se caiga el trozo de tejido dentro de la misma.
- Tras la extracción, se recoge la muestra y se deposita en el tubo.
- Inmediatamente después, se introduce en una heladera, conservadora con hielo y/o refrigerantes, para su transporte al laboratorio y posterior análisis.

En caso de no ingresar al laboratorio dentro de las 24 horas de tomada la muestra, la misma deberá enviarse congelada.

Los envases deben estar rotulados de manera de identificar a cada animal y al establecimiento (RENSPA).

Junto con las muestras, debe enviarse el **Protocolo Oficial de Toma de Muestras** debidamente cumplimentado, con **todos** los datos referentes al número de tubo e identificación del animal, además de los datos del establecimiento y del profesional interviniente.

Necropsia del cerdo

Preparación

Para realizar la necropsia de cualquier especie animal, siempre es necesario cumplir con tres pasos:

- Contar con una historia clínica, lo más completa posible.
- Efectuar una inspección externa.
- Colocar al cadáver en la posición correcta para su apertura.

La historia clínica debe estar detallada en el Protocolo de Remisión de muestras al Laboratorio. Si los animales están vivos, hacer un buen examen clínico antes de su sacrificio.

En cuanto a la inspección externa del cadáver, ésta debe hacerse minuciosamente, prestando atención al estado de las mucosas aparentes, aberturas naturales, miembros, orejas, cola, coloración y lesiones de la piel, Petequias y hemorragias de prepucio, periné sucio por diarrea, etc.

Para el cerdo, la posición del cadáver para su examen *postmortem* más cómoda y correcta, es la de “decúbito dorsal”.

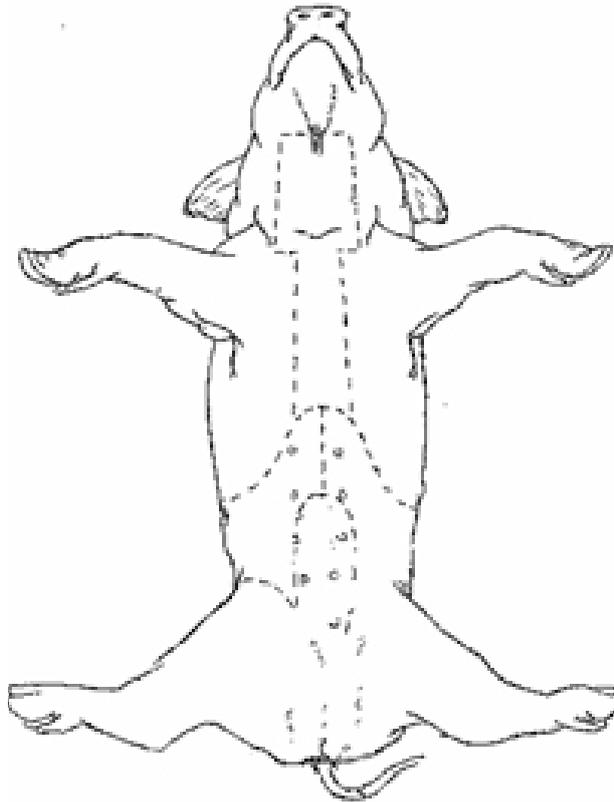
Material para la toma de muestras

El material debe estar preparado antes de iniciar la necropsia. A continuación, se describen el material y los insumos básicos para realizar una correcta necropsia:

- Botas, guantes y ropa descartables (mamelucos, cofias, delantales y, de ser necesario, barbijos y antiparras).
- Cuchillos afilados (de ser posible, de distinto tamaño y longitud de hoja mango sanitario) y chaira.
- Hacha chica y/o sierra de arco, serrucho.
- Bisturí, pinzas y tijeras.
- Garrafitas con mechero y/o producto químico que permita esterilizar el material para tomar muestras (alcohol 80°, iodo, clorhexidina, etc.)
- Frascos de boca ancha estériles (de diversos tamaños), frascos de boca ancha con formol (preferentemente plásticos).
- Agujas, jeringas, bolsas de varios tamaños (aquellas que vienen cerradas al vacío).
- Caja de telgopor con conservantes y/o hielo.
- Protocolos de Necropsia y de Remisión de Muestras.

Descripción de la necropsia: paso a paso

En primer lugar, se posiciona el cadáver en decúbito dorsal y con la cabeza hacia la derecha del operador necropsista y la parte posterior del cadáver hacia la izquierda, de forma de favorecer la fijación y apertura de cavidades.



Cerdo en posición decúbito dorsal.

Utilizando un cuchillo bien afilado, se realiza un corte en arco de la piel, desde detrás de la zona escapular de uno de los miembros anteriores, pasando por la zona axilar (surco entre el esternón y el miembro anterior) y terminando en el espacio intermandibular en el mentón. Luego, se van seccionando los músculos pectorales y subescapulares que unen a cada miembro con el tronco y se separan hacia afuera del mismo, de manera que cada miembro quede en posición horizontal y hacia el costado del cadáver.

Luego, se debe proceder de igual manera con el otro miembro anterior. A continuación, efectuar un corte en arco en la zona inguinal, de modo de exponer y desarticular la articulación coxofemoral. Para ello, primero hay que cortar el manguito articular que rodea la articulación y luego, al aparecer la cabeza femoral, cortar el ligamento redondo y entonces, el miembro posterior puede tomar la posición horizontal. Finalmente, el cadáver quedará con los cuatro miembros desarticulados y horizontales, los que harán que el cadáver permanezca fijado en posición decúbito dorsal (foto 10).



Foto 10. Desarticulación de los cuatro miembros para posicionar el cadáver en decúbito dorsal.

A continuación, se comienza a retirar una tira de piel a partir del espacio intermandibular hacia atrás, hasta la zona prepubiana. Se inspeccionan los linfonódulos inguinales superficiales que se encuentran en la región inguinal bajo la piel y el subcutáneo. Al levantar la piel, la tráquea quedará fija y descubierta. Al llegar a la entrada del pecho, hay que comenzar a cortar las uniones costocondrales, de manera de ir levantando el esternón junto con la tira de piel y músculos. Una vez expuesta la cavidad torácica (foto 11), se continúa levantando y tirando hacia atrás, de manera de descubrir la cavidad abdominal (foto 12), hasta llegar a la zona del tendón prepubiano. Allí, se suspende el corte y se deja estirada hacia atrás la tira de piel y tejidos. De esta manera, quedan expuestas las dos grandes cavidades corporales.

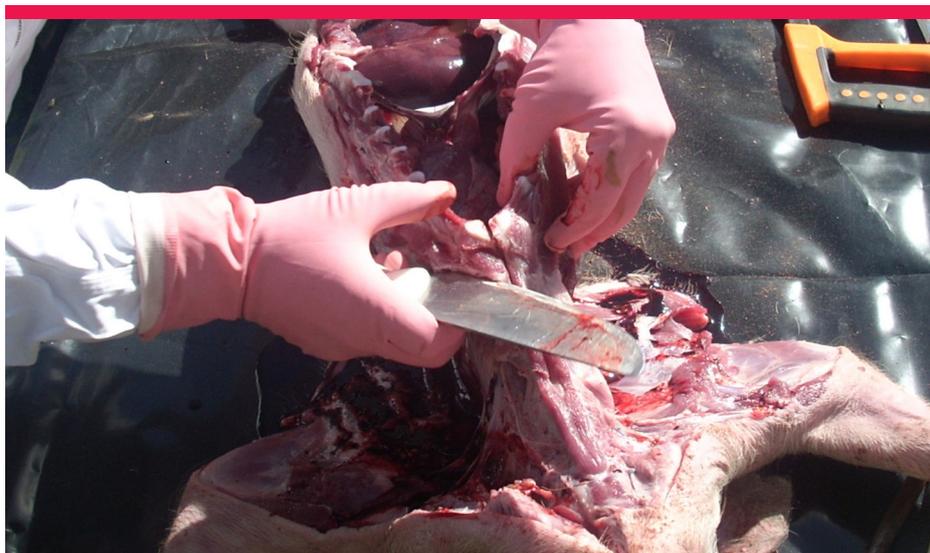


Foto 11. Apertura y exposición del tórax.

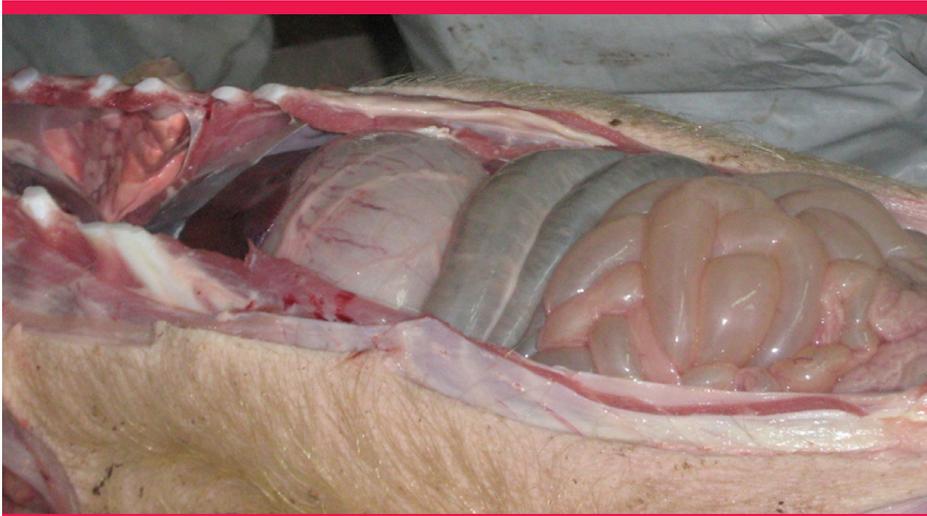


Foto 12. Exposición de la cavidad abdominal.

Inspección de la cavidad torácica

Previo a realizar la extracción de las vísceras torácicas, se inspeccionan todos los órganos in situ, a fin de verificar posiciones anómalas, presencia de secreciones, exudados y/o adherencias. De ser necesario, pueden tomarse muestras para remitir al laboratorio antes de mover los órganos de modo de disminuir la posibilidad de contaminar las mismas.

Se extraen los órganos del aparato respiratorio. Para ello, se efectúa un corte transversal a la base de la lengua, por delante de la laringe y de la epiglotis, de manera que pueda levantarse la laringe y faringe completas, quedando fija la lengua entera. Durante el proceso de extracción de los órganos cérvico torácicos, deben revisarse los linfonódulos, mandibulares, retrofaríngeos, prepectoriales y bronquiales, ya que pueden encontrarse afectados en diversas patologías de origen viral y bacteriano.

Luego, se continúa levantando hacia arriba y atrás, mediante corte de tejidos (músculo y conectivo), la laringe, faringe, tráquea y esófago (foto 13).

Todo este conjunto se levanta y se tira hacia atrás. Al llegar a la entrada del pecho, con el cuchillo en posición paralela al plano sagital y contra la cara interna de la primer costilla, efectuar cortes para desbridar y soltar el conjunto de tráquea y esófago hacia arriba, y luego, tirando los mismos hacia atrás y arriba, se irá cortando el mediastino, de manera que pulmones y corazón comiencen a ser levantados.

Se continúa hasta llegar al diafragma, se corta la aorta abdominal y entonces, todo el conjunto extraído se tira hacia arriba y se cortan los ligamentos pleurales que unen los pulmones al diafragma, el esófago, la vena cava posterior, conducto torácico, etc., de manera de separar completamente los pulmones del diafragma (foto 14).

En este momento, se inspeccionan y se toman muestras de las amígdalas (tonsilas), que se encuentran en la parte posterior del paladar blando. Para esto, se debe retirar la lengua hacia craneal y de esta manera, queda expuesta la tonsila (fotos 15, 16 y 17).



Foto 13. Corte transversal y tracción de faringe, laringe, tráquea y esófago hacia caudal.



Foto 14. Extracción de esófago, tráquea, corazón y pulmones de cavidad torácica.



Foto 15. Retiro de la lengua hacia craneal.



Foto 16. Exposición de tonsila al retirar la lengua.



Foto 17. Toma de muestra de tonsila.

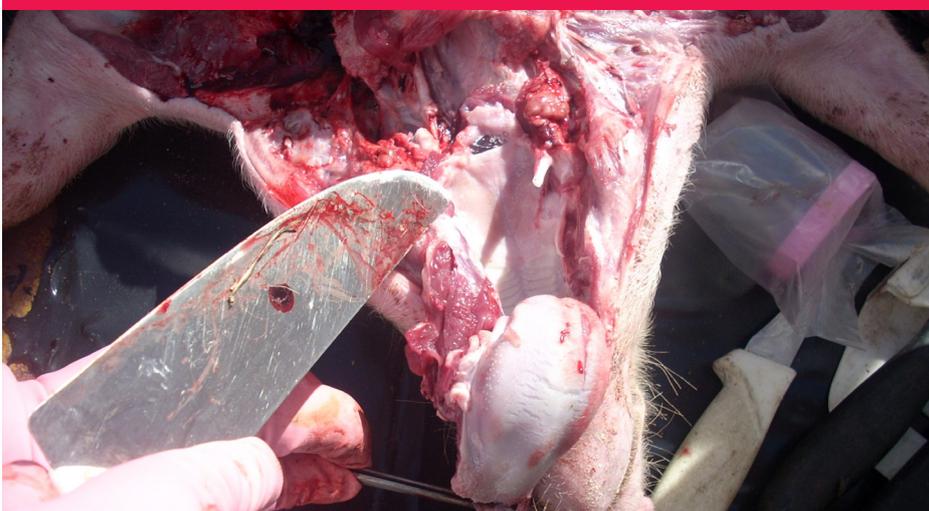


Foto 18. Tonsila

Posteriormente, todo el conjunto de laringe, tráquea, esófago, corazón y pulmones es examinado cuidadosamente y se le efectúan los cortes y la toma de muestras que correspondan (foto 19).

Para la inspección de toda víscera parenquimatosa, se cumplen tres pasos:

- Inspección visual externa detallada.
- Palpación minuciosa para detectar cambios de consistencia y alteraciones ocultas.
- Cortes de todo el parénquima para inspeccionarlo en profundidad.



Foto 19. Observación de laringe, tráquea, esófago, corazón y pulmones.

Las muestras para el diagnóstico bacteriológico, se colectan previamente a la manipulación de las vísceras.

Inspección de la cavidad abdominal

Luego de haber finalizado con la inspección de la cavidad torácica, se continúa con la apertura de la cavidad abdominal (foto 20).



Foto 20. Apertura de la cavidad abdominal.

Se comienza con la inspección de los intestinos, primero el delgado y luego, el grueso. Lo más fácil y práctico es inspeccionar primero el íleon. Para ello, se debe identificar el ciego, ya que el íleon se encuentra unido por un corto meso, el meso íleo-cecal (foto 21). El meso debe ser cortado para llegar a la válvula íleo-cecal. Se hace una incisión en la misma, y se extrae un tramo representativo del intestino delgado (íleon), para su apertura longitudinal con tijera y el examen de la mucosa entérica (fotos 22 y 23).



Foto 21. Identificación del ciego, íleon y meso íleo-cecal.



Foto 22. Corte longitudinal de íleon.



Foto 23. Toma de muestra e inspección de mucosa del íleon.

El corte longitudinal del intestino delgado debe hacerse por su unión con el mesenterio, ya que es la única manera de poder observar las placas de Peyer. Este es el momento de inspeccionar y muestrear nódulos linfáticos mesentéricos.

Al finalizar la inspección del intestino delgado, se realiza la observación del ganglio gastro-hepático, efectuando cortes suaves de la serosa peritoneal al fondo del espacio entre el estómago y el hígado.

A continuación, se inspecciona el ciego y parte del colon espiroides, para lo cual hay que desbridarlos a mano y estirarlos antes de su corte longitudinal.

Luego, se retira toda la masa intestinal de la cavidad abdominal (foto 24).



Foto 24. Masa intestinal.

A continuación, se extraen e inspeccionan el bazo, los riñones, la vejiga urinaria y los nódulos linfáticos.

Finalmente, se extraen e inspeccionan el estómago (foto 25) y el hígado, incluyendo la mucosa de la vesícula biliar, que puede mostrar pequiñas bastante características de casos subagudos o crónicos de PPC.



Foto 25. Inspección de mucosa gástrica.

Según la historia clínica, se decidirá la apertura de la cavidad craneana y la inspección y toma de muestras.

Toma y remisión de muestras de encéfalo

Extracción del encéfalo completo. Método tradicional

El presente método consiste en abrir la cavidad craneana para exponer y acceder al encéfalo completo. Para ello, se debe realizar la extracción de la cabeza y luego quitar la piel y los tejidos blandos de las regiones frontal, parietal y occipital, utilizando cuchillo u otro elemento de corte.

A continuación, se deben realizar con hacha, sierra o serrucho dos cortes paralelos, partiendo desde la cara interna del cóndilo occipital, y que la línea de corte termine a la altura del canto medial de cada ojo, incluyendo en su recorrido los huesos occipital, parietal y frontal.

Posteriormente, se debe realizar un tercer corte, transversal a los anteriormente realizados, siguiendo una línea que pase aproximadamente 2 cm caudal al ángulo lateral de ambos ojos. (Foto 26).



Foto 26. Cortes para la apertura de la cavidad craneana.

Finalmente, se procederá a extraer el fragmento óseo formado por los huesos frontal, parietal y occipital, exponiendo así al encéfalo cubierto por las meninges.

Estas deben cortarse utilizando pinza y tijera, y asegurándose de seccionar la tienda del cerebelo (Foto 27).

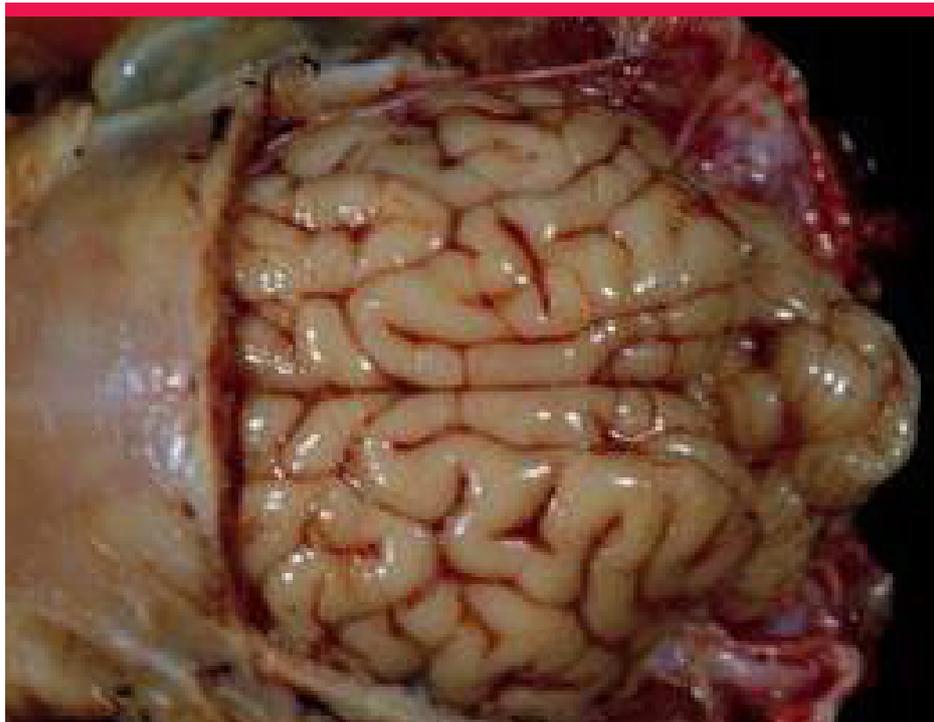


Foto 27. Exposición del encéfalo cubierto por las meninges.

Luego, se debe colocar la cabeza en un ángulo de 45°, elevando la jeta y cortar cuidadosamente los nervios craneanos que sostienen el encéfalo (desde rostral hacia caudal), mientras se lo retira cuidadosamente. Una vez retirado, se toma la muestra de cerebro. La misma deberá colocarse en un recipiente limpio o bolsa de nylon, claramente rotulado, y conservarse en frío hasta su llegada al laboratorio (refrigerada o congelada según corresponda).

De ser necesario enviar muestras para histopatología, se le realizarán al cerebro tres cortes transversales, de forma tal que quede dividido en tercios (anterior, medio y posterior). Los cortes deben realizarse con una profundidad que permita mantener la forma original del órgano, de manera de facilitar la identificación de las estructuras anatómicas. El tejido debe colocarse en un frasco grande, de boca ancha, claramente rotulado y con volumen suficiente de formol al 10% (en relación 9 partes de formol por cada parte de tejido). Esta muestra deberá conservarse y enviarse a temperatura ambiente.

Finalmente, las muestras se deberán remitir al laboratorio, acompañadas del correspondiente protocolo y formulario de información epidemiológica.

Acondicionamiento y conservación de las muestras

Las condiciones varían según la muestra y el tipo de prueba de laboratorio a realizar.

Bacteriología/ virología. Tomar las muestras en forma estéril. Para esto, flamear previamente el material que se va a utilizar (foto 28). Colocar la muestra en envase estéril, conservarla refrigerada y enviarla dentro de las 48 hs. Tomar muestras de 5 x 5 cm.



Foto 28. Toma de muestras para bacteriología.

Las muestras destinadas a virología pueden enviarse congeladas; en cambio, aquellas que vayan a bacteriología deben estar únicamente refrigeradas.

Histopatología. Conservar las muestras en formol al 10% (1 parte formol al 40% y 9 partes de agua). Tomar muestras de 2 x 2 cm de tamaño y de hasta 1 cm de espesor del tejido, ya que esta variable es importante a la hora de la correcta fijación. **NO REFRIGERAR.** Las muestras que pertenecen a un mismo animal pueden ir todas juntas en un mismo frasco.

Serología. Conservarlas congeladas.

Envases y rotulación

Las muestras de un mismo animal podrán estar juntas o en bolsitas separadas por cada tipo de tejido u órgano pero siempre identificadas de manera que se sepan a qué animal corresponde cada muestra.

Los envases deben estar rotulados de manera de identificar cada animal y al establecimiento (RENSPA).

Los datos del envase (bolsa/tubo/frasco) deberán constar en el **Protocolo de Remisión de Muestras** (foto 29), junto a la identificación del animal (caravana), edad, categoría.



Foto 29. Llenado del Protocolo, asentando N° de tubo y animal.

Envío y transporte de las muestras

- Las muestras se transportan y conservan en recipientes estancos.
- Salvo indicación contraria, las muestras se mantienen refrigeradas (a temperatura de heladera).
- Se entregan al laboratorio lo antes posible, dentro de las 48 horas como máximo.
- Se utilizan cajas térmicas, tipo telgopor, con conservantes de frío (evitar el hielo).
- Los tejidos u órganos se colocan por separado en una bolsa de plástico, que será precintada y etiquetada adecuadamente. Después, deberán ponerse en recipientes exteriores fuertes más grandes y rodearse de suficiente material absorbente, para protegerlas de los golpes y absorber las fugas.
- Siempre que sea posible, deben ser transportadas directamente al laboratorio por personal competente de forma rápida y fiable.
- El exterior del envase debe ir etiquetado con la dirección del laboratorio receptor y en él, colocar de forma destacada el siguiente rótulo: “Material patológico animal - Perecedero - Frágil - No abrir fuera del laboratorio”
- El laboratorio receptor de las muestras, será informado con antelación respecto al momento y la forma de llegada de las mismas.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación