

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	INT/V/01
		Rev. 3
		Hoja 1 de 19



## LABORATORIOS DE VIROLOGIA

### INSTRUCTIVO INT/V/01

#### TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA

Rev. 3

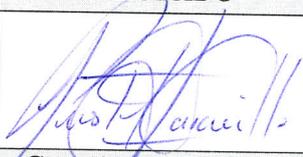


**COPIA CONTROLADA**

N°



**VIGENTE**

ELABORADO	REVISADO	REVISADO	APROBADO
			
Responsable Técnico	Director de Diagnóstico	Responsable Calidad	Coordinador General de Laboratorios
			Fecha: 19 ENE 2018



	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE</b> <b>ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE</b> <b>RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL</b> <b>DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA</b> <b>ESPONGIFORME BOVINA”</b>	<b>INT/V/01</b>
		Rev. 3
		Hoja 3 de 19

## ÍNDICE

1.	OBJETO	4
2.	ALCANCE	4
3.	REFERENCIAS	4
3.1.	Documentos utilizados en la elaboración	4
3.2.	Documentos y registros a utilizar conjuntamente con el Instructivo	5
4.	GENERAL	5
4.1.	Definiciones	5
4.2.	Abreviaturas	6
5.	DESCRIPCIÓN	6
5.1	Identificación de las muestras	6
5.2.	Materiales, reactivos y equipo para toma de muestras	6
5.3	Preparación	8
5.4	Consideraciones generales para la obtención de la muestra	8
5.5.	Envío de muestras para el diagnóstico de Rabia y Encefalopatía Espongiforme Bovina	8
5.6	Envío	12
5.7	Criterios de aceptación o rechazo de las muestras	16
6.	ANEXOS	17
	ANEXO 1. Principales enfermedades, pruebas y muestras para Laboratorio de Virología por especie animal.	17

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 4 de 19

## 1 OBJETO

Describir las actividades que se deben realizar para la toma y envío de muestras de encéfalo para el diagnóstico de Rabia y de tallo encefálico para el diagnóstico de Encefalopatía Espongiforme Bovina, las mismas que son enfermedades de gran impacto económico y riesgo para la salud pública, con la finalidad de que éstas lleguen en óptimas condiciones para su procesamiento y análisis.

## 2. ALCANCE

El presente instructivo hace referencia a la toma y envío de muestras al laboratorio para los diagnósticos, tanto de Rabia en las diferentes especies animales de interés sanitario, así como de Encefalopatía Espongiforme Bovina, y deberá ser aplicado por los técnicos de las Direcciones Distritales y Articulaciones Territoriales de AGROCALIDAD y por los técnicos que operaran en mataderos a nivel nacional, esto exclusivamente para Encefalopatía Espongiforme Bovina.

## 3. REFERENCIAS

Se utiliza la versión vigente de los siguientes documentos:

### 3. 1. Documentos utilizados en la elaboración

- DOCE/DA/159. Manual de Diagnóstico Laboratorial de Raiva. Ministerio de Salud. Secretaría de Vigilancia en Salud, departamento de Vigilancia Epidemiológica serie A. Normas y Manuales Técnicos. Brasilia-DF.
- DOCE/DA/155. Prionics-Check Western, ensayo para la detección in vitro de la PrP relacionadas con las EETs.
- PGC/LA/01. Gestión de la Documentación
- DOCE/DA/160. Programa Nacional Sanitario de Prevención y Control de Rabia Bovina-AGROCALIDAD.
- DOCE/DA/161. Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE.
- DOCE/DA/162. Manual de Diagnóstico de Enfermedades y Producción de Vacunas de la OIE.
- DOCE/DA/163. Programa Nacional Sanitario de Vigilancia y Prevención de Encefalopatía Espongiforme Bovina-AGROCALIDAD.
- DOCE/DA/164. Procedimiento Operativo para el diagnóstico de las EET/animales. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-ARGENTINA). Laboratorio de referencia para las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles de los Animales.
- DOCE/DA/165. Toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio- Instituto Pasteur (IP-Brasil), Laboratorio de Virología-Sección de Diagnóstico.
- DOCE/DA/166. Van Gelderen, C. (2013). Análisis de los factores de riesgo asociado a la Encefalopatía Espongiforme Bovina, EEB, 55-73. ISBN: 978-987-1996-07-01.

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja <b>5</b> de <b>19</b>

### 3.2. Documentos y registros a utilizar conjuntamente con el Instructivo

- PGC/LA/03-FO06: Orden de trabajo Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal.
- Formulario VE01: Seguimiento a Eventos Sanitarios (SIZSE)
- Formulario VE03: Seguimiento a Vigilancia Activa EEB (SIZSE)
- Histórico de modificaciones del INT.

## 4. GENERAL

### 4.1. Definiciones

- \* **Asepsia:** Conjunto de procedimientos científicos destinados a preservar de gérmenes o microbios una instalación o un organismo.
  - \* **Desinfectante:** Productos que permite eliminar los microorganismos, como las bacterias o los virus.
  - \* **Potencialmente infeccioso:** Productos biológicos que pueden causar trastornos patológicos al individuo.
  - \* **Glicerina tamponada:** Líquido espeso, neutro, de sabor dulce, que al enfriarse se vuelve gelatinoso al tacto y a la vista, y que tiene un punto de ebullición alto. La glicerina puede ser disuelta en agua o alcohol, pero no en aceites. Por otro lado, muchos productos se disolverán en glicerina más fácilmente de lo que lo hacen en agua o alcohol, por lo que es un buen disolvente.
  - \* **Infectocontagioso:** Se aplica a la enfermedad o agente contagioso que se transmite con facilidad.
  - \* **Post mortem:** Después de la muerte.
  - \* **Zoonosis:** Cualquier enfermedad que puede transmitirse de animales a seres humanos. La palabra se deriva del griego *zoon* (animal) y *nosis* (enfermedad). Se trata de enfermedades que afectan generalmente a los animales vertebrados, incluyendo al hombre.
- Rabia:** Enfermedad infecciosa producida por un virus, la cual se caracteriza por ser grave y mortal, ya que afecta al Sistema Nervioso Central (SNC) de todos los mamíferos, incluido el ser humano.
- \* **Encefalopatía Espongiforme Bovina:** Enfermedad causada por priones y que se puede transmitir a los seres humanos a través del consumo de partes (alimentos) de animales infectados, sobre todo tejidos nerviosos.
  - \* **Antígeno (Ag):** Sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria, es decir, toda sustancia (viva o inerte) que puede ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas al organismo.
  - \* **Anticuerpo (Ac):** Sustancias producidas por el sistema inmune para identificar, marcar y neutralizar elementos extraños. Ej: bacterias, virus o parásitos.

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja <b>6</b> de <b>19</b>

- \* **Western Blot:** Técnica analítica y ampliamente utilizada para el estudio de proteínas. Este método permite la detección de una sola proteína dentro de una muestra biológica.
- \* **Amonio cuaternario:** Los compuestos de amonio cuaternario representan una familia de compuestos antimicrobianos, considerados como agentes activos catiónicos potentes en cuanto a su actividad desinfectante, ya que son activos para eliminar bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque éstas últimas en menor grado. Son bactericidas, fungicidas y viricidas. Su actividad la desarrollan tanto sobre el medio ácido como alcalino, aunque en éste último muestra mejores acciones. Son compatibles con tensoactivos catiónicos, no iónicos y anfotéricos.

## 4.2. Abreviaturas

- RT: Responsable Técnico
- A: Analista
- NA: No aplica
- Ac: Anticuerpo
- Ag: Antígeno
- SNC: Sistema Nervioso Central
- EET: Encefalopatías Espongiformes Transmisibles
- WB: Western Blot
- EEB: Encefalopatía Espongiforme Bovina

## 5. DESCRIPCIÓN

### 5.1 Identificación de las muestras

Todas las muestras serán registradas mediante el Formulario VE01 o VE03 (SIZSE), el cual contendrá información fehaciente para asegurar su procedencia y trazabilidad, tales como: encabezado, provincia, cantón, parroquia, sector, localidad, predio o finca, propietario, fecha y hora de la visita, ubicación geográfica exacta (GPS), código (si aplica), número de formulario, etc.; información específica del o los animales: especie, raza, edad, sexo, propósito, color, señales particulares (si aplica), número de animales, número de animales enfermos (con los mismos síntomas), número de animales muertos, anamnesis, etc. El formulario deberá contener la mayor cantidad de información necesaria posible. Esta información deberá ser trasladada al Formato PGC/LA/03-FO06: Orden de trabajo Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal. Cada recipiente (estéril o limpio, de acuerdo a los requerimientos) que contenga una muestra estará adecuadamente identificada. Toda muestra debe ser identificada con letra legible, con marcador de tinta indeleble y con la codificación requerida, si es necesario.

### 5.2. Materiales, reactivos y equipo para toma de muestras

#### 5.2.1 Equipo de Protección Personal

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 7 de 19

- a. Gafas cubre ojos
- b. Lentes para protección
- c. Mascarillas con filtro
- d. Guantes de látex y de vinillo
- e. Guantes de malla metálica
- f. Delantal plástico
- g. Botas de caucho
- h. Overol desechable
- i. Gorra

### 5.2.2 Materiales para la toma de muestras

- Caja de transporte de equipo
- Cuchillos: carnicero
- Equipo para afilar cuchillos
- Sierra tipo industrial de mano
- Cincel de 1 ½ pulgada por cuarto, de 30 cm de largo, y 1.50 cm en la parte de la punta
- Navaja multiuso
- Machete
- Combo
- Formón
- Cuchara o paleta para retirar en encéfalo
- Hacha delgada
- Tijeras
- Pinzas de disección
- Gel Refrigerante
- Fundas plásticas de varios tamaños para desechos, color rojo y negro
- Fundas plásticas con cierre hermético de varios tamaños para muestras, transparentes y de color.
- Algodón.
- Esferográficos y lápiz
- Marcador para acetato
- Lápiz dermatográfico
- Cinta masquin
- Cinta de embalaje
- Tabla apoya manos
- Fichas o formularios para identificación.
- Frascos estériles, herméticos de boca ancha con tapa.
- Cepillo
- Esponja para material
- Atomizador manual
- Papel absorbente

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 8 de 19

- Franelas
- Toallas

### 5.2.3 Reactivos

- a. Alcohol
- b. Desinfectante

### 5.3 Preparación

El día anterior se elaborará un listado de los materiales, y equipo necesario para la toma de muestras, y posteriormente en una mochila, bolso o maleta de trabajo se deberá guardar todos los artículos enlistados, dejando preparado el material para el trabajo del siguiente día.

### 5.4 Consideraciones generales para la obtención de la muestra

Todas las muestras tienen que considerarse “**potencialmente infecciosas**”, por tal motivo deberán ser tomadas por un Técnico de AGROCALIDAD, un Médico Veterinario autorizado o por un profesional calificado. Dependiendo de la intervención o la denuncia sanitaria, se deberá obtener la muestra de animales que murieron con sospecha de sintomatología neurológica. Para el caso de estudios de vigilancia activa, del número de animales a muestrear, dependiendo de la enfermedad y del estudio a realizar.

Son útiles los cadáveres de animales que murieron recientemente. Son muestras ideales aquellas que no pasen de 1 a 2 horas post mortem o eutanasia del animal y como máximo 24 horas, debido a que se producen procesos de autólisis tisular e invasión bacteriana masiva.

La asepsia y procedimientos correctos son tan importantes para la toma de muestras, como para la seguridad personal del técnico y asistentes.

Las muestras deben estar identificadas correctamente, embaladas y transportadas manteniendo la cadena de frío y en lo posible ser remitidas al Laboratorio en el menor tiempo posible (12-24 horas).

### 5.5. Envío de muestras para el diagnóstico de Rabia y Encefalopatía Espongiforme Bovina

#### a. Consideraciones generales:

Es de suma importancia que esta actividad se realice en un espacio adecuado y que el operador posea el tratamiento de vacunación antirrábica de pre exposición.

Cada muestra debe ser envasada en un recipiente boca ancha hermético plástico, donde se tiene que identificar la muestra (frasco) con el número o la identificación del animal, según el requerimiento de la Orden de Trabajo PGC/LA/03-FO06.

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 9 de 19

La respectiva documentación debe venir protegida en otra bolsa plástica aparte de la muestra. Enviar las muestras en caja aislante con unidades refrigerantes a un temperatura de 2 a 8 °C. Si la muestra tardara en llegar al Laboratorio, se recomienda congelar antes de ser enviada.

**b. Procedimiento de extracción de la muestra:**

**EXTRACCIÓN DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA**

- Separar la cabeza de la carcasa, mediante un corte a través de la articulación atlanto-occipital, realizar una incisión en la piel a nivel de la línea media de la cabeza, desde la nuca, pasando por la frente y hasta la nariz.
- Traccionar lateralmente la piel para exponer el cráneo, orbitas y parte posterior de la nariz. Remover cualquier musculo y grasa de toda el área, para facilitar cortes posteriores.
- Con la ayuda de una sierra, cortar transversalmente la cabeza (huesos frontales), a nivel de la parte posterior de cada órbita y con una profundidad de 1 a 2 cm.

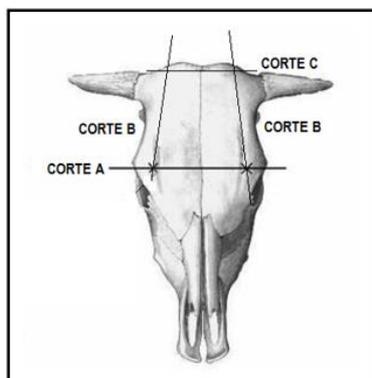


Figura N.1 Cortes del Cráneo del Bovino

Foto: Instituto Pasteur

- Efectuar dos cortes: uno a cada lado del cráneo y desde el foramen magnum a un punto que esta 2-3 cm. medial al corte A. Cada corte debe ser efectuado con la sierra en un ángulo de aproximadamente 45° respecto al eje vertical (corte B).
- Realizar un tercer corte en la parte posterior del cráneo a nivel del tercio distal del frontal (corte C).
- Insertar un cuchillo firme o cincel de hueso en el corte transversal (corte A). Hacer palanca y extraer lentamente tapa del cráneo hacia arriba. Al traccionar, se debe tener precaución de evitar desgarros en los anexos o fijaciones (meninges). Las meninges se cortan cuando se remueve la tapa del cráneo.
- Para cortar membranas se debe utilizar tijeras. Al retirar la fracción de los huesos seccionados, se visualizará la duramadre (meninge externa que se caracteriza por ser una membrana densa y resistente de tejido fibroso). Cortar la duramadre

longitudinalmente en su línea media y apartar lateralmente para visualizar la masa encefálica.



Figura N.2 Meninges Cerebrales  
Foto: J. Espinoza, 2015.



Figura N.3 Extracción de Cerebro  
Foto: J. Espinoza, 2015.

- Cortar las meninges entre los hemisferios cerebrales y sobre el cerebelo. Removerlas cuidadosamente.
- Desprender suavemente el encéfalo de la cavidad craneana, mientras se cortan las adherencias.
- Depositar cuidadosamente el encéfalo sobre una superficie limpia y seca.
- Remover el cerebelo efectuando un corte postero anterior a nivel de su base para exponer el área a muestrear.



Figura N.4 Exposición del Cerebro Bovino  
Foto: J. Espinoza, 2015.

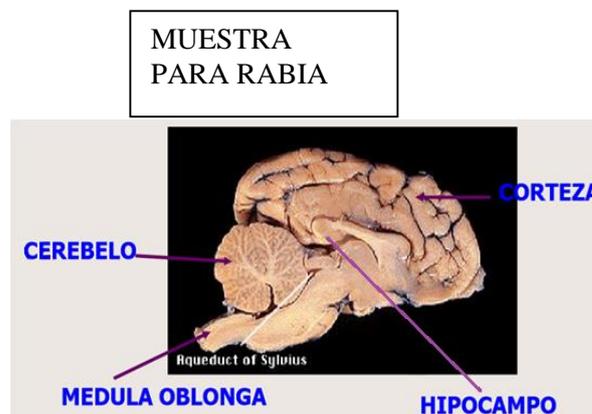


Figura N.5 Estructuras Anatómicas  
Foto: Instituto Pasteur

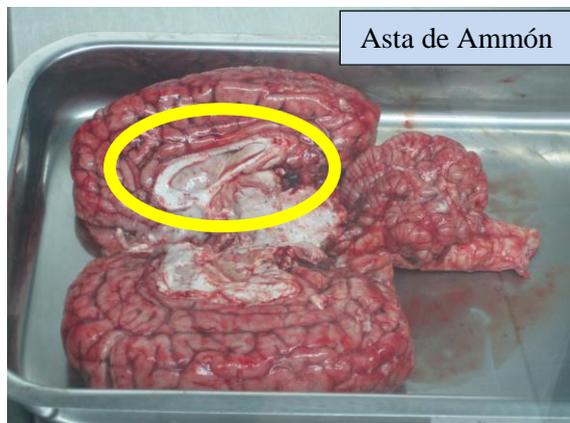


Figura N.6 Asta de Ammón  
Foto: J. Espinoza, 2015.

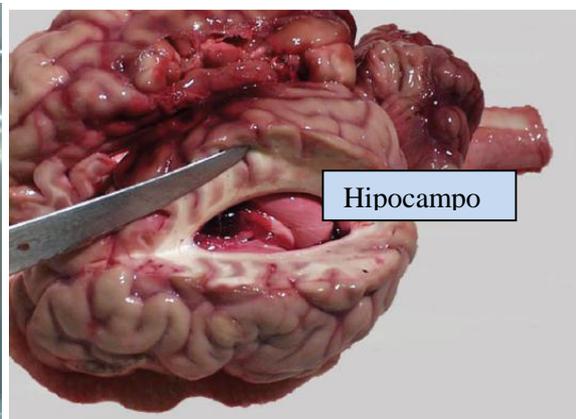


Figura N.7 Hipocampo  
Foto: Instituto Pasteur.

### **EXTRACCIÓN DEL TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA**

La zona del encéfalo más importante para el diagnóstico de EEB es el tallo encefálico y específicamente la médula oblonga a nivel del óbex, de modo que esta zona debe estar intacta. Por tal razón, en el sacrificio o eutanasia del animal, por ningún motivo se debe dañar esta región.

- 1.- Separar la cabeza del bovino por la unión atlanto occipital, tan pronto como sea posible tras la muerte del animal.
- 2.- Colocar la cabeza dorsalmente hacia abajo en una mesa de necropsia u otra adecuada para tal efecto.



Figura N.8 Posición del cráneo para la disección  
Foto: Dep. Virología, INTA

- 3.- Diseccionar cuidadosamente separando la médula de la duramadre y los nervios espinales.

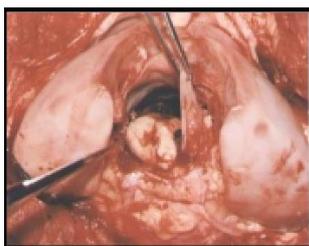


Figura N.9 Exposición del agujero atlantooccipital  
Foto: Dep. Virología, INTA

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 12 de 19

4.- Insertar la “cuchara” a través del foramen magnum, por el espacio subdural hasta el nivel del puente, rotar o girar la cuchara en 180° a la derecha e izquierda, con el objetivo de completar un giro de 360° para separar el tallo encefálico.

5.- Retirar cuidadosamente la cuchara efectuando suave presión hacia arriba al mismo tiempo, con el objetivo de sacar completamente el tallo encefálico. Para tal efecto se puede utilizar tijeras y pinzas o realizarlo con un dedo suavemente.



Figura N.10 Extracción del Tronco Encefálico  
Foto: Dep. Virología, INTA

MUESTRA PARA  
ENCEFALOPATÍA  
ESPONGIFORME



Figura N.11 Exposición del Obex  
Foto: Dep. Virología, INTA

## 5.6 Envío

### 5.6.1 Instrucciones generales

Las muestras serán remitidas directamente a la Coordinación General de Laboratorios de AGROCALIDAD, previa coordinación con la Coordinación General de Sanidad Animal.

### 5.6.2 Funciones de los responsables

#### 5.6.2.1 Cliente / Remitente

- a) Clasificar la muestra.
- b) Identificar el contenido del envío.
- c) Embalar las muestras de acuerdo a las medidas de bioseguridad recomendadas.

	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE</b> <b>ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE</b> <b>RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL</b> <b>DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA</b> <b>ESPONGIFORME BOVINA”</b>	<b>INT/V/01</b>
		Rev. 3
		Hoja <b>13</b> de <b>19</b>

- d) Marcar, identificar y etiquetar el paquete.
- e) Indicar si contiene agentes zoonóticos.
- f) Adjuntar toda la documentación requerida.
- g) Coordinar con el Laboratorio el envío de las muestras.

#### **5.6.2.2 Transportador/Courier**

- a) Aceptación del envío dependiendo del contenido.
- b) Almacenamiento si fuere necesario o hasta el envío.
- c) Cargado del paquete si lo amerita.
- d) Inspeccionar la presencia de sustancias ajenas a la declaración.
- e) Proveer informaciones sobre normas de bioseguridad y tiempos de llegada.
- f) Ofrecer entrenamiento sobre embalaje e identificación de muestras.

#### **5.6.3 Datos necesarios de remitente y destinatario**

##### **5.6.3.1 Remitente**

- a. Nombre del responsable del envío.
- b. Nombre del dueño o interesado en el servicio de análisis.
- c. Dirección completa del remitente.
- d. Teléfonos de contacto en caso de emergencia.
- e. Tipo y número de muestras contenidas.
- f. Formularios de las muestras contenidas.

##### **5.6.3.2 Destinatario**

- a. Será Nombre de la persona de contacto.
- b. Dirección completa del laboratorio.
- c. Teléfonos de contacto en caso de emergencia.

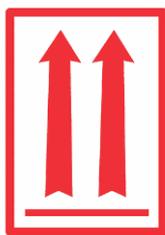
#### **5.6.4 Prácticas de embalaje y manejo adecuado**

- Descripción de la muestra biológica contenida en el paquete (PGC/LA/03-FO06 VE01, VE03).
- Proteger el paquete de la exposición directa a la luz solar, fuentes de calor, radiación y humedad.
- Descripción de la muestra con etiquetas indicadoras las que deberán ser:
  - a. De material durable
  - b. Legibles o entendibles
  - c. Estar a la vista
- Etiquetas de peligro: son aquellas en forma de diamante que identifican las 9 clases de mercancías peligrosas.

	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE</b> <b>ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE</b> <b>RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL</b> <b>DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA</b> <b>ESPONGIFORME BOVINA”</b>	<b>INT/V/01</b>
		Rev. 3
		Hoja <b>14</b> de <b>19</b>



**. Gráfico N.1 Etiquetas de identificación de mercancía peligrosa**



**Gráfico N.2 Etiquetas de orientación**

- Nunca voltear los paquetes cuando estén provistos de etiquetas de orientación que señalen la disposición del envío.
- Cerciorarse de que la temperatura a la cual se envía la muestra es la adecuada para el contenido del envío e incluir la cantidad suficiente de unidad (geles) refrigerantes que garanticen el mantenimiento de la cadena de frío.
- Para envíos que contengan líquido, se utilizarán embalajes rígidos e impermeables.
- Todo contenedor que lleve material líquido o que se condense por efecto de los refrigerantes, deberá mantenerse protegido por material absorbente y cuando se requiera, un embalaje secundario.
- Para las materias sólidas deben envolverse individualmente o ir separados de manera que se evite cualquier contacto entre ellos.
- Cuando haya dudas sobre la presencia de líquido residual en el recipiente primario durante el transporte, deberá utilizarse un embalaje adaptado para líquidos que contenga material absorbente.
- Para muestras refrigeradas o congeladas, únicamente se utilizará para conservar la cadena de frío, geles o refrigerantes.
- No enviar/recibir embalajes que demuestren derrames o perforaciones.
- No enviar/recibir embalajes en cajas de cartón o fundas plásticas.  
No enviar/recibir paquetes que dejen ver agujas, vidrios rotos o cualquier otro material corto punzante.

	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja <b>15</b> de <b>19</b>

- Si se produce una fuga de materias y éstas se esparcen por el vehículo o contenedor, estos últimos no pueden reutilizarse hasta después de limpiarse a fondo y, en su caso, desinfectados o descontaminados.
- Las mercancías y objetos transportados en el mismo vehículo o contenedor deben examinarse por si se han contaminado.

#### **5.6.5 Procedimiento de limpieza ante derrames:**

- a. La respuesta adecuada en caso de exposición a cualquier sustancia infecciosa es lavar o desinfectar la zona afectada lo antes posible, independientemente de cuál sea el agente infeccioso.
- b. Si una sustancia infecciosa entra en contacto con piel dañada, la zona afectada se lava con agua y jabón o con una solución antiséptica.
- c. Se debe consultar a un médico siempre que se sospeche la exposición a sustancias infecciosas por un paquete dañado.
- d. Utilice guantes, ropa de protección y protección facial y ocular, en caso de que se haga inspección del envío.
- e. Cubra el derrame con un paño o con toallas de papel para que no se extienda.
- f. Vierta un desinfectante adecuado sobre el paño o las toallas de papel y la zona circundante (las soluciones de lejía al 5% son por lo general adecuadas, pero en los derrames producidos en aviones, pueden usarse desinfectantes de amonio cuaternario u otros que garanticen la desinfección).
- g. Aplique el desinfectante comenzando por el margen exterior de la zona afectada por el derrame y avanzando de forma concéntrica hacia el centro.
- h. Transcurridos unos 30 minutos, retire los materiales.
- i. Si hay vidrio roto u otros objetos punzantes, recoja los materiales con un recogedor o un trozo de cartón rígido y dépositelos en un envase resistente a las perforaciones para su eliminación.
- j. Limpie y desinfecte la zona afectada por el derrame (en caso necesario, repita los pasos anteriores).
- k. Deshágase de los materiales contaminados depositándolos en un envase para eliminación de desechos mismo que debe ser resistente a las perforaciones.
- l. Tras la desinfección efectiva, notifique el incidente a la autoridad competente e informe de que el lugar ha sido descontaminado.

#### **5.6.6 Notificación de incidentes:**

Los diversos reglamentos internacionales de transporte establecen el requisito de notificar los incidentes a las autoridades competentes en asuntos de transporte, además de a las autoridades de salud pertinentes y al remitente y receptor de las muestras.

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>	
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>		Rev. 3
			Hoja 16 de 19

**Gráfico N.3 Ejemplo de datos que deberán constar en envío de muestras:**

 INFECTIOUS SUBSTANCE <small>In case of damage or leakage immediately notify public health authority</small> 6	<p style="text-align: right;"><b>REMITENTE</b></p> <p><b>Nombre del responsable del envío</b> Dr. Jorge Espinoza</p> <p><b>Nombre del propietario de la muestra</b> Sra. Juana Caicedo</p> <p><b>Dirección completa del remitente</b> Av. de las Americas N45-72 y Av. Integración</p> <p><b>Teléfonos de contacto</b> 0999555222 - 593 2 258893</p>						
<p><b>DESTINATARIO</b></p> <p><b>LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL - AGROCALIDAD</b></p> <p><b>Dirección completa del laboratorio</b>          Dir. Eloy Alfaro y Gonzales Suarez, Granja del MAGAP, Sector La Granja, frente a Gasolinera PETROCOMERCIAL, Tumbaco - Pichincha - Ecuador.          Telf. Of.: (593) 2 2372844-2372845 Ext. 223, 221, 222 Movil: 0996774967</p>							
							
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">NÚMERO Y TIPO DE MUESTRA (S)</th> <th style="width: 50%;">FORMULARIO(S) DE LA MUESTRA (S)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 20px;"> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="height: 20px;"> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>		NÚMERO Y TIPO DE MUESTRA (S)	FORMULARIO(S) DE LA MUESTRA (S)				
NÚMERO Y TIPO DE MUESTRA (S)	FORMULARIO(S) DE LA MUESTRA (S)						

**Gráfico N.4 Ejemplo de datos que deberán constar en envío de muestras**



Foto: J. Espinoza, 2015



Foto: J. Espinoza, 2015

### 5.7 Criterios de aceptación o rechazo de las muestras

Las muestras no serán aceptadas en el laboratorio en los siguientes casos:

- a. Formulario o formatos desactualizados, incompletos o ilegibles, de preferencia que sean llenados digitalmente.

	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE</b> <b>ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE</b> <b>RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL</b> <b>DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA</b> <b>ESPONGIFORME BOVINA”</b>	<b>INT/V/01</b>
		Rev. 3
		Hoja <b>17</b> de <b>19</b>

- b. Cuando está dañada la integridad del contenedor de la muestra, el empaque o envoltura de transporte de la muestra.
- c. Cuando las muestras que están fuera de su contenedor o derramadas dentro de la caja de transporte.
- d. Cuando las muestras superen la temperatura máxima permitida según el caso, por ejemplo: muestras que su límite permitido de temperatura sea 8°C y superen este valor (> 8°C).
- e. Muestras en las que la cantidad, calidad, aspecto, integridad, etc., no sea la adecuada. Por ejemplo: muestras con un grado alto de contaminación o materia extraña.
- f. Rotulación de cajas de transporte inapropiada, ilegible, poco clara, errónea.
- g. Identificación de muestras inapropiada, ilegible, poco clara, errónea.

## 6. ANEXOS

**ANEXO 1.** Principales enfermedades, pruebas y muestras para Laboratorio de Virología por especie animal.



 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>INSTRUCTIVO</b>	<b>INT/V/01</b>
	<b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA”</b>	Rev. 3
		Hoja 18 de 19

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	ESPECIE	PRINCIPALES SINTOMAS	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	MUESTRA
<b>RABIA</b>	Rhabdovirus	Murciélagos	Tanto en las especies hematófagas como en las no hematófagas se ha observado rabia furiosa, muda o completamente asintomática. La rabia furiosa es poco frecuente en estos mamíferos y cuando se presenta produce irritación en el animal, con signos de parálisis y conducta errática, la muerte ocurre rápidamente. Los murciélagos pueden llegar a recuperarse de la enfermedad y ser únicamente portadores de ella.	Inmunofluorescencia Directa (IFD), PB, Cultivo Celular, PCR	Encéfalo, cerebelo, hipocampo (Asta de Ammón), corteza, medula oblonga
		Bovinos	Los síntomas predominantes son de tipo paralítico, con movimientos incordinados de las extremidades posteriores, pueden presentar pupilas dilatadas y el pelo erizado. Otros signos son somnolencia y depresión con lagrimeo y catarro nasal. Los accesos de furia son raros, también se pueden presentar temblores musculares, inquietud, hipersensibilidad e irritación en los sitios de mordedura. Los animales presentan salivación excesiva y espumosa, con un estreñimiento pronunciado y heces gruesas, secas y fétidas.		
		Equinos	No es muy diferente en su sintomatología a la del bovino. La enfermedad se caracteriza por síntomas de marcada excitación y posteriormente con parálisis de desarrollo rápido, sintomatología de cólico, dificultad para tragar, abundante salivación, incoordinación de las extremidades y en general no son muy agresivos. Cuando caen mueven los remos en forma de batido y rara vez se observan espasmos musculares.		
		Porcinos	Presentan sintomatología violenta, similar a la de los perros. Se observa crispación del hocico, movimientos masticatorios, salivación, convulsiones y parálisis. La muerte se presenta en un término que generalmente no sobrepasa los dos días.		
		Ovinos y Caprinos	La enfermedad es muy similar a la que se presenta en los bovinos, pero con duración e intensidad variables.		
<b>ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA</b>	Prión	Bovinos	Generalmente, los bovinos enferman durante el primer año de vida. Transcurrido el periodo de incubación (media de 4 a 5 años), aparecen síntomas inespecíficos que dificultan su detección clínica: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida de condición corporal.</li> <li>• Disminución de la producción.</li> </ul>	Pruebas Bioquímicas (Western Blot)	La zona del encéfalo, el tallo encefálico y

	<b>INSTRUCTIVO</b> <b>“TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS DE</b> <b>ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO DE</b> <b>RABIA Y DE TALLO ENCEFÁLICO PARA EL</b> <b>DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA</b> <b>ESPONGIFORME BOVINA”</b>	<b>INT/V/01</b>
		Rev. 3
		Hoja <b>19</b> de <b>19</b>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cojeras.</li> <li>Progresivamente, aparecen síntomas más aparentes:</li> <li>• Descoordinación de movimientos.</li> <li>• Cambios de comportamiento.</li> <li>• Nerviosismo.</li> <li>• Respuestas exageradas a ruidos o luces habituales.</li> <li>• Recelo y agresividad.</li> <li>• Se vuelven muy llamativos en las últimas fases de la enfermedad, haciendo que se conozca como “el mal de las vacas locas”.</li> <li>• Muerte.</li> </ul>		específicamente la médula oblongada a nivel del óxex, cerebelo.
--	--	--	--	---