

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 1 de 13



LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

INSTRUCTIVO INT/BM/25

TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL

Rev. 4



ELABORADO	REVISADO	REVISADO	APROBADO
			
Responsable Técnico	Director de Diagnóstico	Responsable Calidad	Coordinador General de Laboratorios
			Fecha: 31 ENE 2018

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 3 de 13

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 INT	4
4. GENERAL	5
4.1. Definiciones	5
4.2. Abreviaturas	5
5. DESCRIPCIÓN	5
5.1 Identificación de las muestras	5
5.2 Principales enfermedades, pruebas y muestras para laboratorio por especie animal	5
5.3 Materiales y reactivos para toma de muestras	6
5.3.1 Ropa de Protección	6
5.3.2 Materiales	6
5.3.3 Soluciones de transporte	6
5.4 Procedimiento	6
5.4.1 Descripción de la toma de muestra	6
5.4.2 Limitaciones de uso del protocolo	7
5.4.3 Información de seguridad	7
5.4.4 Toma de muestras sanguíneas con EDTA	7
5.4.5 Toma de muestras de epitelios y órganos	7
5.4.6 Toma de muestras de hisopados	8
5.4.7 Evitar la contaminación de las muestras	8
5.4.8 Recomendaciones para el envío	8
5.4.9 Condiciones de Rechazo	9
6. ANEXOS	9

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 4 de 13

1. OBJETO

- Proporcionar la información necesaria para el correcto envío y toma de muestras para los análisis de laboratorio de diagnóstico molecular.
- Establecer las condiciones para el envío de muestras para Diagnóstico Animal al Laboratorio de Biología Molecular de AGROCALIDAD.

2. ALCANCE

El instructivo será aplicado a diferentes tipos de muestra y será empleado por el personal de los Laboratorios Regionales, Laboratorios de Diagnóstico Rápido, por los usuarios particulares, así como por el personal del Laboratorio de Biología Molecular del área Animal de AGROCALIDAD-Tumbaco.

Las enfermedades de control obligatorio que se monitorearán son aquellas que están normadas por la autoridad sanitaria, la Dirección de Sanidad Animal de AGROCALIDAD.

Las especies animales de interés sanitario son: bovinos, ovinos, caprinos, equinos, suidos y aves. Las enfermedades que se monitorean son aquellas que están normadas por la OIE y las que la autoridad sanitaria crea competente.

El ensayo por Biología Molecular será utilizado como una prueba confirmatoria de resultados sospechosos a la presencia o ausencia de la enfermedad, obtenidos en los Laboratorios de la Dirección de Diagnóstico Animal de AGROCALIDAD.

3. REFERENCIAS

3.1. Documentos utilizados en la elaboración

Se utiliza la versión vigente de los siguientes documentos:

- PGC/LA/01 Procedimiento General de Calidad Gestión de la Documentación
- DOCE/BM/134 Guía práctica toma de muestras conservación envío. exapol@exapol.com; www.exapol.com. Zaragoza – España.
- INT/DA/020. Guía para Necropsias en Animales Domésticos.

3.2. Documentos y Registros a utilizar conjuntamente con el INT

Los documentos internos y/o externos que se deben utilizar (**se utilizarán en su revisión vigente**) conjuntamente con el INT para desarrollar la actividad en él descrita, son:

- PGT/LA/06. Recepción, ingreso y entrega de muestras. AGROCALIDAD.
- INT/BM/01 Manejo y Preparación de Ítems de ensayo
- INT/BM/23 Instructivo de Tratamiento y eliminación de desechos
- INT/DA/019. Instructivo de muestreo para Toma y Envío de Muestras en Animales Domésticos.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 5 de 13

4. GENERAL

4.1. Definiciones

- * **Registro:** Documento que presenta resultados obtenidos o proporciona evidencia de actividades desempeñadas.
- * **Muestreo:** Procedimiento mediante el cual se recolecta muestras representativas de una o varias especies para realizar un análisis.
- * **Muestra:** Individuo o grupo de individuos extraídos de una población mediante un procedimiento de muestreo. También se puede considerar la parte de un individuo que es representativa de una especie y sirve para realizar su identificación taxonómica

4.2. Abreviaturas

- RT: Responsable Técnico
- NA: No aplica
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con retro transcripción.
- BM: Biología Molecular.
- DA: Diagnóstico Animal
- PBS: Buffer salino fosfato
- DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

5. DESCRIPCIÓN

El presente instructivo expone en líneas generales los diferentes procedimientos, técnicas y métodos para toma, transporte, conservación y envío de muestras al laboratorio de Biología Molecular de AGROCALIDAD en Tumbaco, garantizando que lleguen a su destino en condiciones óptimas para su análisis.

5.1 Identificación de las muestras

- a. Las muestras que ingresan al Laboratorio de Biología Molecular serán codificadas según el procedimiento PGT/LA/06.
- b. Todas las muestras serán acompañadas de una orden de trabajo vigente con los campos llenos de manera clara, el memorando de solicitud de procesamiento de la muestra en la cual se indique que se encuentra exonerado de pago o la factura en el caso de cliente externo.
- c. Cada recipiente, tubo, envase, funda, empaque (estéril o limpio de acuerdo a los requerimientos) que contenga una muestra deberá estar adecuadamente identificado.

5.2 Principales enfermedades, pruebas y muestras para laboratorio por especie animal

En el Anexo N° 1 se describen el tipo de muestras que se deben obtener según el diagnóstico a realizarse y dependiendo de la especie animal.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 6 de 13

5.3 Materiales y reactivos para toma de muestras

5.3.1 Ropa de Protección

- Uniformes de laboratorio y mandil exclusivo para la toma de muestras.
- Mascarilla cubre bocas
- Guantes de látex o nitrilo.

Nota: Manipular todo el material biológico como si fuera capaz de transmitir la enfermedad.

5.3.2 Materiales

- Tubos Falcon de 50ml o frascos de boca ancha para toma de muestras estériles (órganos o tejidos).
- Tubos Falcon de 15 ml para hisopados.
- Hisopos de dacrón, rayón, o plumón (no algodón).
- Tubos al vacío (tapa lila) con EDTA.
- Algodón.
- Aguja calibre 21 para tubos al vacío (vacutainer).
- Bolsas rojas medianas para depósito de desechos.
- Camisa o cápsula para aguja de toma múltiple (vacutainer).
- Frasco con alcohol antiséptico.
- Gradilla para tubos.
- Recipiente con hielo para los frascos de órganos y tubos con EDTA.
- Recipiente o guardián para depósito de corto punzantes debidamente etiquetado.
- Tijeras estériles
- Pinzas limpias
- Hipoclorito de sodio al 5%.
- Fundas herméticas para colocar los frascos y tubos.
- Cinta de embalaje.
- Geles para mantener las muestras en refrigeración y mantener la cadena de frío a 4°C.
- Cajas térmicas de espuma de tamaño adecuado.
- Etiquetas.

5.3.3 Soluciones de transporte

Los medios más comunes de transporte de toma y envío para el área de Biología Molecular son:

- Medio DMEM con antibiótico antimicótico
- Buffer salino fosfato PBS
- Agente caotropico Trizol

Para cualquier consulta comunicarse con el laboratorio de Biología Molecular de AGROCALIDAD-Tumbaco para recibir instrucciones o explicación de los diferentes medios de transporte.

5.4 Procedimiento

5.4.1 Descripción de la toma de muestra

Para la correcta toma de muestras recurrir al INT/DA/019 (revisión vigente) Instructivo de Toma y Envío de muestras en Animales Domésticos. Del Laboratorio de Diagnóstico Animal de AGROCALIDAD.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLÓGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 7 de 13

5.4.2 Limitaciones de uso del protocolo

Se debe tener sumo cuidado con el manejo de muestras durante su proceso de toma y envío ya que algunas son enfermedades de tipo zoonóticas.

5.4.3 Información de seguridad

El procesamiento de las muestras debe llevarse a cabo según las regulaciones nacionales de seguridad biológica pertinentes.

A continuación una breve descripción de la toma de muestra para el laboratorio de Biología Molecular (para mayor información dirigirse al INT/DA/019 Instructivo de Toma y Envío de muestras en Animales Domésticos) y al Instructivo de Manejo y Preparación de Ítems de ensayo INT/BM/01.

5.4.4 Toma de muestras sanguíneas con EDTA

Para la toma de muestras para el diagnóstico molecular de animales con síntomas confirmados. Consultar el instructivo INT/DA/019.

- Alistar material para toma de muestras.
- Tomar la muestra con un tubo estéril tapa lila con anticoagulante aproximadamente 2 ml de sangre y agitar.
- Limpiar el frasco externamente una vez sellado con la solución de hipoclorito de sodio al 5% para evitar el traslado de virus o patógenos.
- Identificar correctamente el tubo, con el código de campo.
- Colocar los tubos con la muestra de sangre en las cajas térmicas de espuma flex.
- Los datos de colección de la muestra deben estar claramente llenos en la orden de trabajo vigente.

Nota: Estas muestras una vez tomadas, deben colocarse inmediatamente en la caja térmica perfectamente identificada, con geles congelados para evitar perder la cadena de frío a 4°C y deben enviarse al Laboratorio en un tiempo menor a 48 horas.

5.4.5 Toma de muestras de epitelios y órganos

- Preparar el material para toma de muestras
- Revisar el instructivo INT/DA/019 y el INT/BM/01.
- Tomar la muestra en el tubo Falcon de 50 ml o en frasco estéril un pedazo de 2x5 cm (250mg de muestra a 5 gramos).
- Limpiar el frasco externamente una vez sellado con la solución de hipoclorito de sodio al 5% para evitar el traslado de virus o patógenos.
- Los datos de colección de la muestra deben estar claramente llenos en la orden de trabajo vigente.

Para la toma de muestras de epitelios y órganos estas deben tomarse directamente del área que presenta la sintomatología.

Nota: Estas muestras una vez tomadas, deben colocarse inmediatamente en la caja térmica perfectamente identificada, con geles congelados para evitar perder la cadena de frío y deben enviarse al Laboratorio en un tiempo menor a 48 horas.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLÓGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 8 de 13

5.4.6 Toma de muestras de hisopados

- Marcar los tubos Falcon de 15 ml estériles teniendo en cuenta: la codificación del caso.
- Los hisopos que se usaran no deben ser de algodón, deben ser de dacrón, plumón o rayón nunca de algodón.
- La solución de transporte es DMEM o PBS, durante la toma de muestra y el traslado debe mantenerse a una temperatura de 4°C sin perder la cadena de frío.
- La toma de muestra la debe hacerla un veterinario responsable de toma de muestras siguiendo instrucciones del instructivo de toma de muestra del INT/DA/019.
- Una vez tomados los hisopados deben colocarse inmediatamente en la solución de transporte y mantenerlas a 4°C hasta su llegada al laboratorio. No colocar más de cinco hisopos en un tubo Falcon en el caso de que se requiere hacer un pool de muestras.

Nota: El medio para transporte de muestras es: El DMEM* Flight Glucose x 500 ml GIBCO, Número de catálogo: 11965092 color rosado y la solución de PBS de pH 7.4. Estos medios de transporte serán solicitados en el Laboratorio de Biología molecular previa autorización del Director de Diagnóstico, con 10 días de anticipación para que el personal del laboratorio de Biología Molecular pueda entregarlo y revise disponibilidad del material.

5.4.7 Evitar la contaminación de las muestras

A causa de la sensibilidad de las pruebas, se deben tomar precauciones especiales para evitar resultados de falsos positivos por lo que se recomienda seguir los siguientes pasos como precaución:

- a. Utilizar una bata de laboratorio limpia y guantes desechables sin talco (que no hayan sido utilizados antes) cuando se preparen las pruebas.
- b. Cambiar los guantes entre muestras, y cada vez que se sospeche que pudo haber contaminación.
- c. Mantener los tubos de reacción estériles tapados o envueltos en papel empaque.
- d. Usar preferentemente material de plástico descartable y estéril.

5.4.8 Recomendaciones para el envío

El análisis molecular se realiza sobre ácidos nucleicos, los cuales son susceptibles a degradación con los cambios de temperatura y por tanto puede afectarse la integridad de la molécula. La manera específica de envío de muestras dependerá de la enfermedad a analizarse. Por lo cual será necesario comunicarse con el laboratorio de Biología Molecular de AGROCALIDAD-Tumbaco para informarse de las condiciones en que la muestra debe ser enviada o revisar el Instructivo de Manejo y Preparación de Ítems de ensayo INT/BM/01.

Es aconsejable que el paquete que contenga la muestra, sea etiquetado con las recomendaciones de envío, tales como “Manténgase en refrigeración” según corresponda.

- En cuanto sea tomada la muestra y correctamente preservada, esta debe llegar al laboratorio de Biología Molecular en 24 horas o en caso extremo en 48 horas pero sin perder la cadena de frío en ningún momento.
- Si el envío se realiza vía aérea se recomienda el servicio de aeropuerto-aeropuerto.
- Si el envío es vía terrestre cerciorarse de depositar una cantidad suficiente de bloques de gel congelado para evitar el deterioro de la muestra.
- Verificar que las muestras traigan los formatos respectivos. Muestras remitidas sin la información correspondiente no serán procesadas por el laboratorio.
- Es importante pegar un adhesivo que indique el peligro biológico, en el exterior de la caja de envío.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 9 de 13

5.4.9 Condiciones de Rechazo

Muestras maltratadas, mal empacadas o incorrectamente identificadas no serán recibidas.

- Muestras con información incompleta o sin documentación serán devueltas, sin consideración alguna.
- Muestras que no correspondan al sitio propio donde se aloja el patógeno que se desea analizar, tampoco serán recibidas.
- Muestras contaminadas entre si antes y durante el envío. Solo serán consideradas las muestras perfectamente selladas.
- Las muestras que sean rechazadas serán eliminadas siguiendo el INT/BM/23 Instructivo de Tratamiento y eliminación de desechos por tratarse de material con sospecha de estar infectado.
- Finalmente, queda a criterio del RT del laboratorio de Biología Molecular la aceptación o el rechazo de la muestra en circunstancias no contempladas en este instructivo.

6. ANEXOS

Anexo I: Principales enfermedades, pruebas y muestras para Laboratorio de Biología Molecular



	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 10 de 13

ANEXO I: PRINCIPALES ENFERMEDADES, PRUEBAS Y MUESTRAS PARA LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

El tipo de envase a usar depende de las muestras:

- **Sangre:** Tubo para toma de muestra de sangre con anticoagulante EDTA
- **Hisopado:** Tubo Falcón estéril de 15 ml.
- **Órganos o tejidos:** Frasco estéril de toma de muestras de orina o funda estéril para toma y envío de muestras.

BOVINOS:

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	PRINCIPALES SINTOMAS	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	CANTIDAD	MUESTRA	MEDIO DE TRANSPORTE
FIEBRE AFTOSA	Aftovirus	Vesículas en boca, labios, encías, paladar superior, hocico, entre las pezuñas y sus rodetes coronarios, pezones y ubre.	RT – PCR PCR en tiempo real	250 gramos a 1 gramos, de 1 a 5 ml en caso de ser LEF o macerado.	Epitelios, LEF (Líquido esófago-faríngeo), Macerado 10X	<ul style="list-style-type: none"> - Solución de buffer salino (PBS) - Trizol - Glicerina tamponada - Puede enviarse epitelio sin medio, solo en el tubo. - Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío. - DMEM, macerado 10X
ESTOMATITIS VESICULAR CONTAGIOSA	Virus familia Rhabdovirus, género Vesiculovirus.	Fiebre, aftas, vesículas y erosiones en la cavidad oral, pezones y patas, salivación intensa y disminución de la producción.	RT - PCR	250 gramos a 5 gramos, 1 a 2 ml de macerado.	Tejido epitelial de lesiones. Contenido de las vesículas. Suero. Macerado 10 X.	<ul style="list-style-type: none"> - Solución de buffer salino (PBS) - Trizol - Epitelio solo - Glicerina tamponada - Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
DIERREA VIRAL BOVINA (DVB)	Familia: Flaviviridae Género: Pestivirus	Fiebre, depresión, salivación (a consecuencia de las úlceras), anorexia, descarga nasal seromucosa, tos y polipnea, diarreas profusas de	PCR	2 gramos	Sangre Punción de la oreja	<ul style="list-style-type: none"> - Tubo con anticoagulante. - Punción - Muestra no debe perder la cadena de frío.

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 11 de 13

		olor fétido que pueden contener moco y sangre, esto también a consecuencia de las úlceras en estómago e intestino. Aborto, infertilidad.				
RABIA	<i>Lyssavirus</i> de la familia <i>Rhabdoviridae</i>	Cambios repentinos en el comportamiento y parálisis progresiva conducente a la muerte. En algunos casos, un animal puede morir rápidamente sin haber mostrado signos clínicos significativos.	RT-PCR	2 gramos 2 a 5 ml	Cerebro, saliva	- Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
DETRECIÓN DE ADN BOVINO EN PIENSOS	No aplica	Detección de la presencia de ADN bovino en piensos comerciales	PCR convencional	200 a 500 mg	Pienso	- Funda ziploc o de papel

PORCINOS:

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	PRINCIPALES SINTOMAS	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	CANTIDAD	MUESTRA	MEDIO DE TRANSPORTE
PESTE PORCINA CLÁSICA, COLERA PORCINO	Virus de la familia Pestivirus.	Fiebre, anorexia, abatimiento, leucopenia, trombopenia, paresia del tren posterior, muerte.	PCR EN TIEMPO REAL.	2 gramos	Tonsilas, ganglio mesentérico y faríngeo, bazo, íleo distal, riñón. Sangre con EDTA.	- Buffer salino fosfato (PBS) - Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío. - Trizol
INFLUENZA PANDÉMICA H1N1	Virus de la familia Ortomixoviridae. Tipo A.	Abortos / Infertilidad. Neumonía.	PCR EN TIEMPO REAL	2 gramos	Hisopado nasofaríngeo. Pulmón (órgano).	- Hisopados en el Medio DMEM - Hisopados en PBS - Trizol

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 12 de 13

DIARREA EPIDÉMICA PORCINA	Alphacoronavirus, de la familia Coronaviridae	Diarrea, vómito, decaimiento, mortalidad en cerdos recién nacidos.	RT-PCR	Fragmento de Intestino delgado	Exudados Rectales Heces diarreicas frescas Intestino Delgado yeyuno e íleon Ganglios Mesentéricos	Buffer salino fosfato (PBS) Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
PESTIVIRUS	<i>Pestivirus</i> es un género de virus que pertenece a la familia de las <i>Flaviviridae</i>	Diarrea, problemas respiratorios y desórdenes hemorrágicos.	RT-PCR	2 gramos	Sangre con EDTA. Punción de oreja 2 gramos, tonsilas, ganglio mesentérico y faríngeo, bazo, íleon distal, riñón.	Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
PRRS Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (<i>PRRS</i>)	Familia <i>Arteriviridae</i> , género <i>Arterivirus</i> , grupo <i>Nidovirus</i> .	Presencia de fiebre, neumonía, letargia y bajo rendimiento productivo.	RT-PCR	2 gramos	Sangre con EDTA. Tonsilas, ganglio mesentérico y faríngeo, bazo, íleon distal, riñón, pulmón. Suero Sanguíneo.	Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA	Familia: <i>Herpesviridae</i> Especie: Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) Género: Varicellovirus	Fiebre hasta 41,7 °C, letargo, pérdida de apetito, abatimiento general), suele afectar al aparato reproductor (problemas de infertilidad, aborto, malformaciones congénitas).	PCR	1 a 5 ml	Lavado prepucial, semen, sangre con EDTA	4°C o sin perder la cadena de frío

	INSTRUCTIVO	INT/BM/25
	TOMA DE MUESTRA PARA EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-DIAGNÓSTICO ANIMAL	Rev. 4
		Hoja 13 de 13

AVES:

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	PRINCIPALES SINTOMAS	PRUEBAS DIAGNOSTICAS	CANTIDAD	MUESTRA	MEDIO DE TRANSPORTE
INFLUENZA H5N1 Y H7N9	Familia: Ortomixoviridae. Tipo A.	Síntomas gripales Alta mortalidad Signos respiratorios.	PCR EN TIEMPO REAL	2 gramos	Hisopado nasofaríngeo. Pulmón. Hisopados cloacales (caso de animales silvestres)	<ul style="list-style-type: none"> - Buffer salino fosfato (PBS) - Órganos preservados a 4°C o sin perder la cadena de frío.
LARINGOTRAQUEITIS INFECCIOSA AVIAR	Familia: Herpesviridae	Tos, estornudo, sacudidas de cabeza, letargo, secreciones de los ojos y los nostrilos (a veces sanguinolentos), y dificultad respiratoria.	PCR EN TIEMPO REAL	Tráquea entera	Tráqueas e hisopados traqueales	<ul style="list-style-type: none"> - PBS - Tráquea preservada a 4°C o sin perder la cadena de frío.
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	Familia: Paramyxoviridae	Signos respiratorios (jadeo, tos), nerviosos (depresión, inapetencia, decaimiento, parálisis), hinchazón de los ojos y el cuello, diarrea, desfiguración del animal, producción de huevos reducida y con cáscara áspera y fina.	PCR EN TIEMPO REAL	Hisopado	Hisopado nasofaríngeo. Hisopados cloacales (caso de animales silvestres)	<ul style="list-style-type: none"> - Buffer salino fosfato (PBS) - Hisopados en el Medio DMEM
BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR	Virus de la familia Coronaviridae, Género Coronavirus	Ataca el tracto respiratorio y tracto uro-genital. Causa enfermedad respiratoria en aves infectadas produciendo también daño en los riñones. Inflamación catarral, neumonía. Las aves presentan jadeos, tos, secreción nasal y ojos llorosos.	PCR EN TIEMPO REAL	Hisopado	Hisopado nasofaríngeo. Hisopados cloacales (caso de animales silvestres)	<ul style="list-style-type: none"> - Buffer salino fosfato (PBS) - Hisopados en el Medio DMEM