

*Línea Gratuita
8013 8080*

MANUAL
**TOMA Y REMISIÓN DE
MUESTRAS SEROLÓGICAS**

Programa Nacional Erradicación de la Fiebre Aftosa



ACRÓNIMOS.

EITB	: Ensayo Inmunoenzimático de electrotransferencia.
ELISA 3ABC	: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.
FA	: Fiebre Aftosa.
LIDIVET	: Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario.
OIE	: Organización Mundial de Sanidad Animal.
PAMA	: Programa de Acción MERCOSUR libre de Fiebre Aftosa.
PE	: Proteínas Estructurales.
PNE	: Proteínas No Estructurales.
PRONEFA	: Programa Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa.
SENASAG	: Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria.
SVL	: Servicio Veterinario Local.
SVO	: Servicio Veterinario Oficial.
UNSA	: Unidad Nacional de Sanidad Animal.
UPM	: Unidad Primaria de Muestreo.
VIAA	: Antígeno Viral Asociado a la Infección.

Contenido.

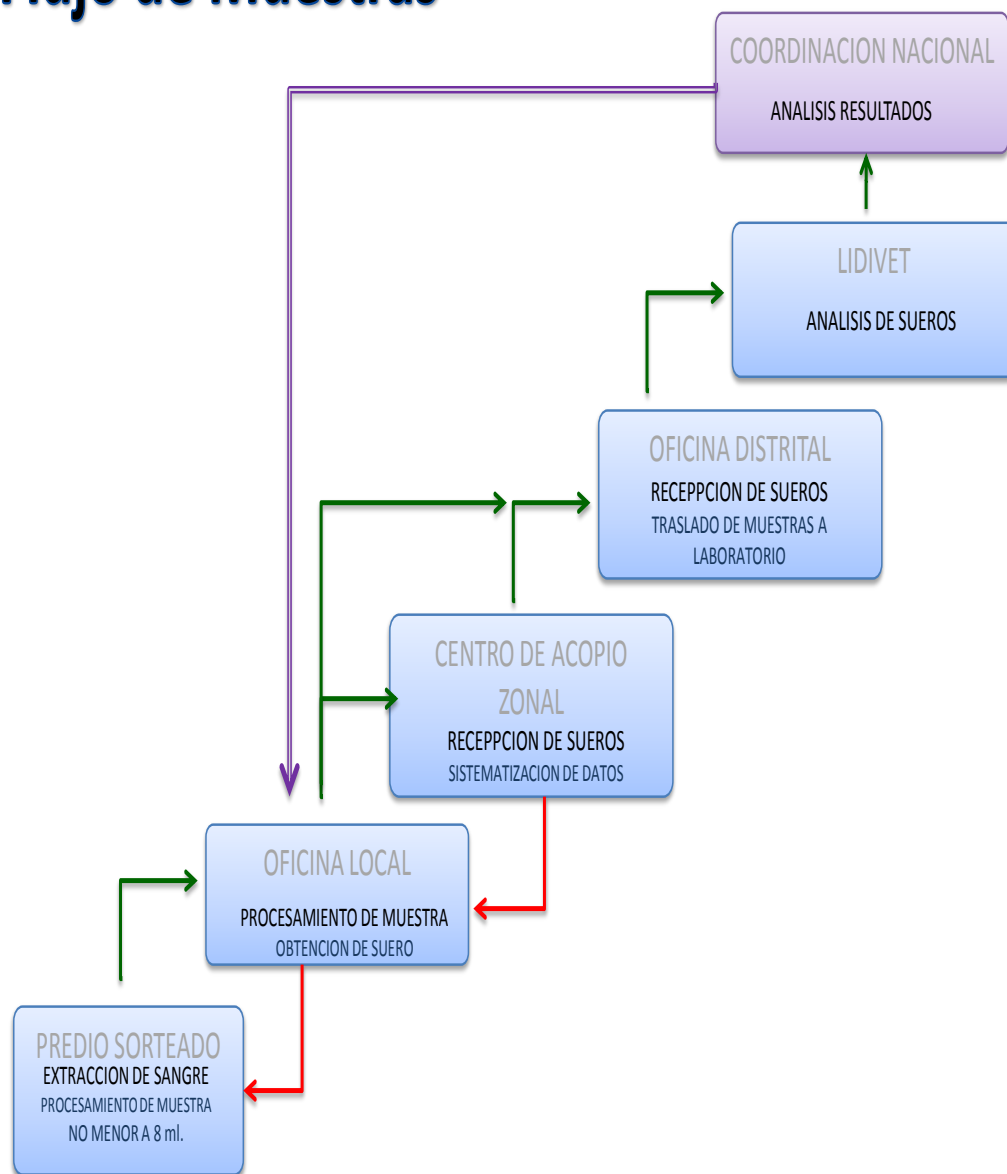
I.	PRESENTACIÓN.....	3
II.	CONCEPTOS.....	5
III.	OBJETIVO.....	10
IV	ESTRUCTURA DE LA ORGANIZACIÓN DEL ESTUDIO SEROLÓGICO.....	11
4.1	COMISIÓN NACIONAL	12
4.2	COORDINACIÓN TÉCNICA DE SEROLOGÍA	12
4.2.1	Sub Coordinación Nacional de Logística.....	13
4.2.2	Sub Coordinación Nacional de Informática.	14
4.2.3	Sub Coordinación de Comunicación.....	14
4.2.4	Sub Coordinación - Laboratorio	15
4.2.5	Sub Coordinación de Estudio Epidemiológico Complementario.....	15
4.2.6	Brigada de Estudio Epidemiológico Complementario.....	16
4.3	SUB COORDINACIÓN DEPARTAMENTAL DE SEROLOGÍA	16
4.3.1	Sub Coordinación Zonal	17
4.3.2	Responsable de acondicionamiento de las Muestras.	17
4.3.3	Responsable de sistematización De Datos.	17
4.3.4	Responsable de comunicación.....	18
4.3.4	Responsable de logística.....	18
4.2.4	Brigadas de Recolección de Muestras	19
V.	ACCIONES PREVIAS A LA TOMA DE MUESTRAS.....	20
5.2	IDENTIFICACIÓN DEL PREDIO.	21
5.2	COMUNICACIÓN AL PROPIETARIO DEL PREDIO.	21
5.3	VISITA PREVIA.	23
5.4	ACTUALIZACIÓN DEL DATOS.	24
5.5	GEO REFERENCIA.	25
VI	TOMA DE MUESTRAS.....	26
6.1	MATERIAL Y EQUIPO DE MUESTREO.....	26
6.2	SELECCIÓN DEL ANIMAL	27
6.3	CONFIRMACIÓN DE LA EDAD DE LOS ANIMALES SELECCIONADOS.	28
6.4	INSPECCIÓN CLÍNICA DE LOS ANIMALES.....	29
6.5	SANGRADO DE LOS ANIMALES.....	30
6.6	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.....	33
6.7	IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL SANGRADO.....	34
6.8	LLENADO DE FORMULARIOS.....	36
6.9	SISTEMATIZACIÓN DE DATOS DE FORMULARIOS	37
VII.	ACONDICIONAMIENTO Y REMISIÓN DE MUESTRAS.....	38
7.1	CONSERVACIÓN DE LA MUESTRAS.....	38
7.2	OBTENCIÓN DE SUERO – CENTRIFUGADO.....	39
7.3	EMPAQUE Y ENTREGA DE MUESTRAS - ENVÍO AL CENTRO DE ACOPIO.....	41
VIII.	RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN LABORATORIO.....	44
IX.	RESULTADOS DE LABORATORIO.....	44
X.	ESTUDIO COMPLEMENTARIO.....	46
XI.	ANEXOS.....	47

I. PRESENTACIÓN.

El manual de procedimientos para la toma y remisión de muestras serológicas del PRONEFA, ha sido elaborado por la Unidad Nacional de Sanidad Animal a efecto de guiar a los actores de vigilancia a través de encuestas serológicas en algunas de sus etapas la selección de las Unidades Primarias de Muestreo, visitas previas, Toma – Acondicionamiento - Remisión de muestras y el seguimiento de estos procesos hasta la emisión de resultados de laboratorio.

El SENASAG considera para este fin directrices de la OIE, e incorpora en la metodología de diseño de la muestra criterios recomendados por el Centro PANAFTOSA. en lo que respecta a la vulnerabilidad y consideraciones del uso de estos para efecto de aumentar la sensibilidad del diseño de investigación de Circulación Viral.

Flujo de Muestras



II. CONCEPTOS.

Acondicionamiento de Muestras.

Proceso mediante el cual se prepara la muestra de suero en condiciones adecuadas para su almacenamiento previo a su transporte o análisis.

Anticuerpos contra el Virus de la Fiebre Aftosa.

Los animales infectados por el Virus de la Fiebre Aftosa producen anticuerpos contra las Proteínas Estructurales (PE) y No Estructurales (PNE) del virus. Las pruebas para la detección de anticuerpos contra las PE son las técnicas para Proteínas Estructurales (ELISA-PE). Las pruebas para la detección de PNE son representadas por el sistema ELISA3ABC/EITB.

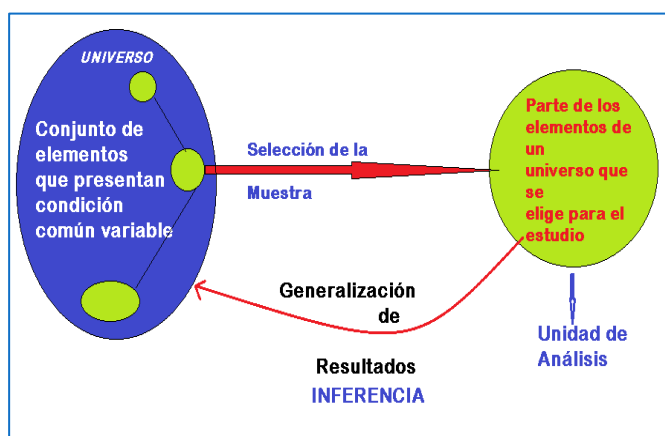
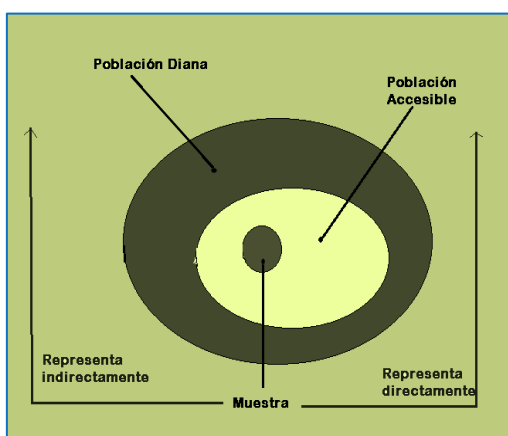
Colecta Pareada de Muestras Serológicas.

Se refiere a la toma de muestras serológicas de un mismo grupo de animales cuyas colectas están separadas por un determinado espacio de tiempo.

5

Diseños Muestrales.

Son los distintos procedimientos que existen para extraer muestras de poblaciones con el objeto de conocer sus características promedio.



Encuestas Sero-Epidemiológicas.

Estudios desarrollados en muestras poblacionales con el fin de investigar estados sanitarios respecto a la inmunidad frente a agentes infecciosos.

Identificación Individual.

Proceso en el que se aplica dispositivos para identificar a cada uno de los bovinos a los cuales se les ha tomado muestras de sangre. El objetivo de tener identificados los animales repercute en el manejo de los mismos durante el estudio y posterior a este caso sea necesario estudios complementarios.

Macro-Regiones.

Una **Macro-Región** es una subdivisión geopolítica que abarca varias regiones tradicionalmente o políticamente definidas. En los planes del PRONEFA, se consideran las Macro-regiones de Altiplano, Chaco, Valles y Amazonia.

Muestra Estudiada.

Es el grupo de animales en el que se recogen los datos y se realizan análisis de laboratorio e inspección clínica, siendo realmente un subgrupo de la población accesible.

Muestreo.

Técnica para la selección de una muestra a partir de una población.

Muestreo Aleatorio Simple.

Proceso en que todos los elementos de la población disponible tienen igual probabilidad de ser incluidos en la muestra.

Población Diana o Universo.

Es el recuento de todos los elementos que presentan una característica común, por ejemplo, la población de bovinos de la macro región de amazonia.

Predio Reactor.

Predio con, por lo menos un animal seropositivo al sistema de diagnóstico ELISA 3ABC/EITB.

Pruebas de Laboratorio para Detección de PNE.

La prueba ELISA-PNE podrá utilizarse como prueba serológica describa para detectar la infección o la circulación del virus, tanto en los animales vacunados como en los no vacunados. Se harán investigaciones en todos los rebaños de origen de los animales seropositivos. La situación de cada rebaño positivo respecto de la infección o la circulación del virus de la Fiebre Aftosa se documentará con los resultados de las investigaciones epidemiológicas y de las investigaciones suplementarias en laboratorio.

Receptividad.

El concepto de receptividad, por su vez, está relacionado con la capacidad de poblaciones animales para mantener el VFA circulando. Esos rebaños son caracterizados, principalmente, por suministro sistemático de bovinos susceptibles, ya sea por inadecuados niveles inmunitarios adquiridos por la vacunación o donde las formas de producción de tipo extensivo, con baja densidad animal y localizados en áreas ecológicas desfavorables al manejo animal.

Remisión de Muestras.

Acto por el cual, se envía muestras correctamente tomadas y acondicionadas hacia su análisis o almacenamiento en centro de acopio o laboratorio.

Toma de Muestras.

O colecta de muestras, es el procedimiento por el cual se extrae muestras de un animal, en este caso se considera a la extracción de sangre de bovinos de venas principales del animal.

Unidad de Muestreo.

Es el elemento o los elementos disponibles para su selección en alguna etapa del proceso de muestreo.

Primaria.- Predios seleccionados para el estudio.

Secundaria.- Bovinos con edad entre 6 y 24 meses.

Vulnerabilidad.

Condición epidemiológica de poblaciones bovinas con mayor probabilidad de presentar la enfermedad, caso el virus este circulando, y que está caracterizado por áreas con intenso ingreso y egreso de los rebaños, por ejemplo: sistema de producción de recría o engorda (ingreso y diseminación del agente).

Las condiciones de vulnerabilidad y receptividad están relacionadas con la dinámica poblacional de los rebaños que, por su vez, es determinada por las formas de producción predominante. De manera general, la

vacunación sistemática, con coberturas adecuadas, reduce los riesgos asociados a la vulnerabilidad y de receptividad.

Zona/Región.

Designa una parte de un país claramente delimitada, que contiene una sub-población animal con un estatus sanitario particular respecto de una enfermedad determinada contra la cual se han aplicado las medidas de Vigilancia, Control y Bioseguridad requeridas para el comercio internacional.

III. OBJETIVO DEL MANUAL

Proporcionar al personal técnico operativo de campo, un Manual de Procedimientos, para garantizar la uniformidad en la calidad de obtención de muestras e información, durante la ejecución del Estudio Seroepidemiológico.



Muestra de sangre

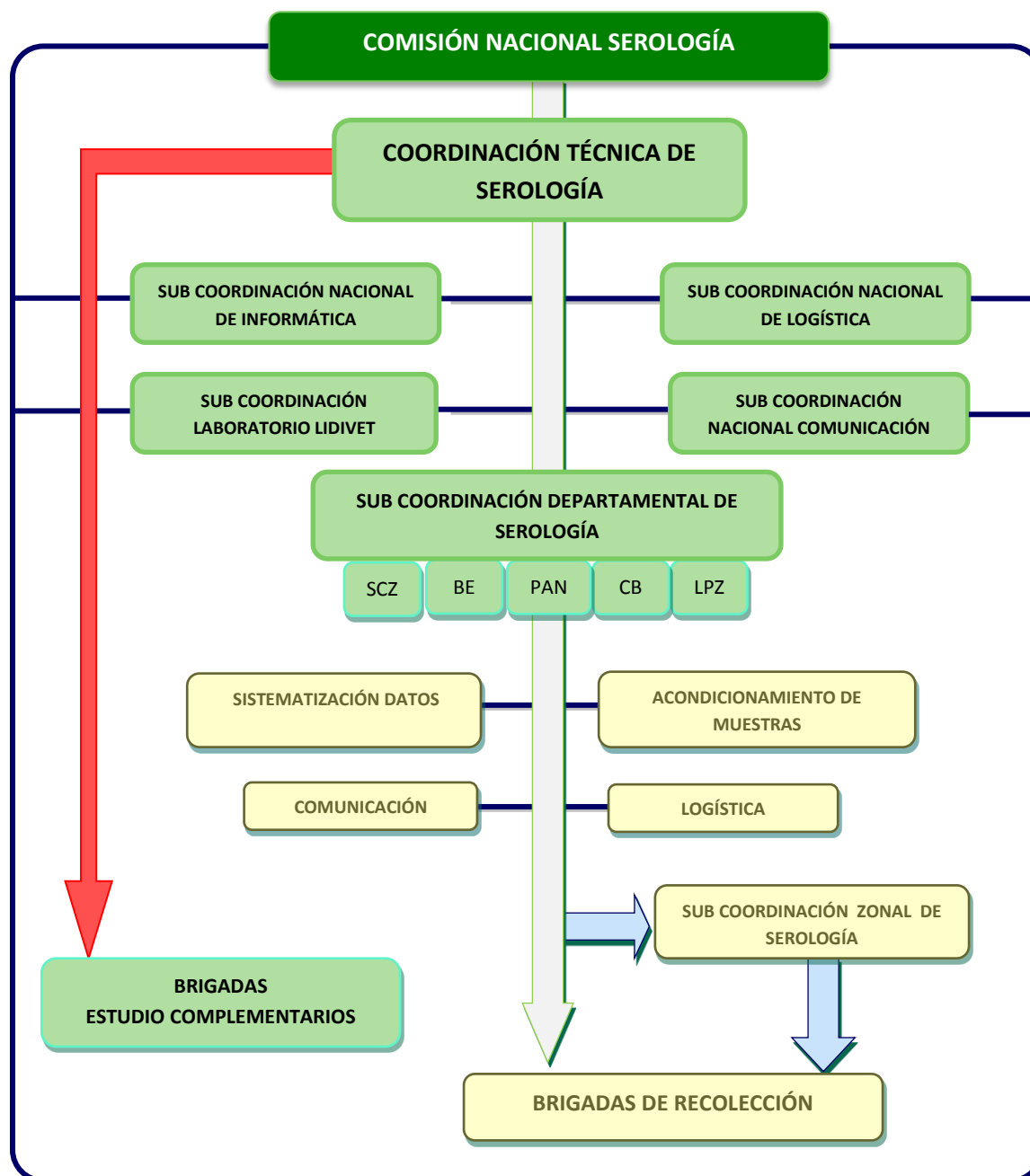
10

Suero



IV ESTRUCTURA DE LA ORGANIZACIÓN DEL ESTUDIO SEROLÓGICO.

El PRONEFA, para llevar adelante el trabajo de serología, establece la siguiente estructura operativa a nivel Nacional y Departamental.



4.1 COMISIÓN NACIONAL.

Está conformada por representantes de instituciones públicas y privadas involucradas en el marco del PRONEFA.

Actividades Principales:

- ❖ Promover la coordinación entre las instituciones involucradas, para garantizar recursos económicos, logística y cooperación técnica necesarios para la ejecución del muestreo.
- ❖ Informar a la opinión pública sobre los avances del trabajo de serología. **El Jefe Nacional de Sanidad Animal** será el único vocero Oficial de la Serología.

4.2 COORDINACIÓN TÉCNICA DE SEROLOGÍA.

Actividades Designadas:

- ❖ Organizar la formación de equipos de trabajo a nivel nacional y departamental, con capacidad técnica suficiente para llevar adelante la investigación sero-epidemiológica, basada en aspectos epidemiológicos y estadísticos.
- ❖ Definición de las actividades de los equipos de trabajo a seguir y el cronograma respectivo de trabajo.
- ❖ Garantizar mediante los equipos de trabajo, flujos de comunicación, distribución y envío de equipos y material, así como la recepción, acopio y entrega de las muestras colectadas al Laboratorio
- ❖ Mantenerse alerta y a disposición las 24 horas del día, mientras dure el muestreo y el diagnóstico por el periodo del 1º al 30 del mes Julio de 2013

- ✿ Apoyar a los equipos en la planificación de las actividades y levantamiento de las informaciones.
- ✿ Serán responsables de la preparación de los resultados, para el análisis estadístico respectivo. En caso de ser necesaria la realización de estudios complementarios, dirigirán los trabajos relativos al muestreo y recolección de la información.

4.2.1 Sub Coordinación Nacional de Logística.

Actividades Designadas:

- ✿ Garantizar la ejecución del presupuesto del Muestreo Serológico.
- ✿ Garantizar el envío, distribución, remplazo de equipos, material de toma y envío de muestras y combustible.
- ✿ Garantizar la disponibilidad de Vehículos en buen estado de funcionamiento.
- ✿ Garantizar la recepción, acopio y entrega de las muestras colectadas a las distritales.
- ✿ Procesar y Revisar los documentos aprobados y autorizados para el uso en la Coordinación Administrativa (Formularios).
- ✿ Conformación, distribución y recepción elementos no utilizados de Kits de muestreo.
- ✿ Recepción de Insumos.
- ✿ Registro de las Operaciones en el Sistema de Control de Stock.

4.2.2 Sub Coordinación Nacional de Informática.

Entre sus actividades se destaca los siguientes:

- ✿ Poner a Disposición del Coordinador Nacional Datos Catastrales.
- ✿ Coordinar la sistematización de datos en los centros de acopio.
- ✿ Coordinar la sistematización de datos de resultados de laboratorio.
- ✿ Seguimiento al funcionamiento de los módulos informáticos de Serología y Laboratorio.

4.2.3 Sub Coordinación de Comunicación.

Actividades Designadas:

- ✿ Establecer una línea de comunicación entre los diferentes niveles ejecutores de la serología.
- ✿ Coordinar la actividad de Informar, socializar el trabajo de serología a nivel de campo.
- ✿ Nexos del nivel departamental con la Coordinación Nacional de Serología.
- ✿ Recibir llamadas telefónicas de las Brigadas para consultas varias.
- ✿ Dar respuesta inmediata a las consultas, siguiendo los procedimientos establecidos en el Manual de Serología.
- ✿ Presentar a la coordinación Técnica nacional las consultas registradas para su consideración y toma de decisión en forma continua y permanente.
- ✿ Comunicar las acciones tomadas por el Coordinador Técnico a quien corresponda en la brevedad posible.

4.2.4 Sub Coordinación – Laboratorio.

Actividades Designadas:

- ✿ Coordinar con el Director de LIDIVET las actividades de serología.
- ✿ Informar a la coordinación técnica los avances del trabajo de serología en laboratorio.
- ✿ Coordinar con la Coordinación Técnica Departamental, la cantidad semanal de muestras que el Laboratorio procesará para la recepción de nuevos sueros.
- ✿ Comunicar a los Jefes de Brigadas, cualquier problema encontrado en los materiales recibidos por parte del equipo de recepción de muestras en LIDIVET.
- ✿ Reuniones en forma permanente con los diferentes equipos para el seguimiento y avance de las tareas enmarcadas en el muestreo.

15

4.2.5 Sub Coordinación de Estudio Epidemiológico Complementario.

Actividades Designadas:

- ✿ Conformar Brigadas de Estudio Epidemiológico Complementario.
- ✿ Dar cumplimiento a las directrices de la Coordinación técnica, respecto al estudio complementario.

4.2.6 Brigada de Estudio Epidemiológico Complementario.

Actividades Designadas:

- ⦿ Realizar investigación epidemiología en predios identificados por la coordinación Técnica.
- ⦿ Toma de muestras de acuerdo a lineamientos de la Coordinación Técnica.
- ⦿ Llenado de formularios.
- ⦿ Procesamiento de muestras.
- ⦿ Informe epidemiológico escrito al coordinador técnico de las actividades en predio.

4.3 SUB COORDINACIÓN DEPARTAMENTAL DE SEROLOGÍA.

Actividades Designadas:

- ⦿ Dar cumplimiento a las directrices emanadas por la coordinación técnica de la serología.
- ⦿ Establecer la estructura de serología a nivel Departamental.
- ⦿ Garantizar el cumplimiento de las actividades de serología a nivel Departamental.
- ⦿ Listado de personas involucradas en el muestreo en todos los niveles operativos a nivel Departamental, de acuerdo a la estructura de organización de la serología.

4.3.1 Sub Coordinación Zonal.

Actividades Designadas:

- ✿ Dar cumplimiento a las directrices emanadas por la coordinación técnica de la serología.
- ✿ Seguimiento a las actividades de las brigadas de toma de muestras.
- ✿ Acopio de Muestras.
- ✿ Revisión de los formularios de muestras.
- ✿ Entrega de Muestras al laboratorio.

4.3.2 Responsable de Acondicionamiento de las Muestras.

Actividades Designadas:

- ✿ Recepción de las muestras.
- ✿ Revisar los formularios de toma de muestras.
- ✿ Acondicionar las muestras para la entrega de los mismos a laboratorio.
- ✿ Comunicar la fecha y estimación de la hora de la entrega de las muestras al laboratorio.

4.3.3 Responsable de Sistematización de Datos.

Actividades Designadas:

- ✿ Responsables de sistematizar los datos de las muestras.

4.3.4 Responsable de Comunicación.

Actividades Designadas:

- ✿ Conformar el centro de llamadas (Call Center) en cada uno de los Departamentos.
- ✿ Recibir requerimientos de los equipos de muestreo.
- ✿ Informar al Coordinador Departamental sobre los requerimientos recibidos del el equipo de muestreo.
- ✿ Informar a los actores sobre el cambio en el cronograma de muestreo.

4.3.4 Responsable de Logística.

Actividades Designadas:

- ✿ Distribución de equipos, formularios, material, combustible a los equipos.
- ✿ Disponibilidad de Vehículos en buen estado.
- ✿ Procesar y Revisar los documentos aprobados y autorizados para el uso en la Coordinación Administrativa (Formularios).
- ✿ Conformación, distribución y recepción, elementos no utilizados en el muestreo.
- ✿ Recepción de Insumos.
- ✿ Provisión de cantidades suficientes de hielo, para mantener la refrigeración y que la calidad de conservación de los sueros, sea lo más óptimo posible, ya que de esto depende la calidad de las muestras.

4.2.4 Brigadas de Recolección de Muestras.

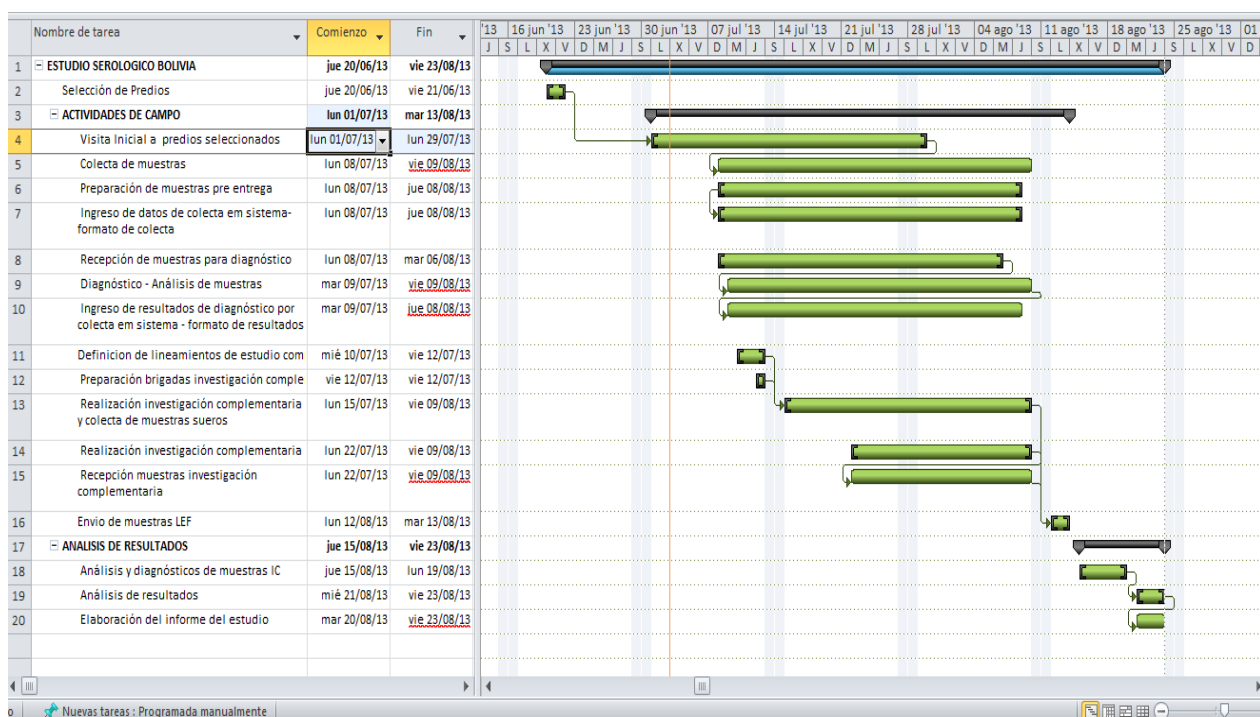
Actividades Designadas:

- ✿ Comunicación a los propietarios de los establecimientos seleccionados, indicándoles la fecha prevista de la serología.
- ✿ Llenado de los formularios de Investigación Inicial y colecta de muestras en las propiedades seleccionadas.
- ✿ Mantenerse siempre alerta y a disposición las 24 horas del día, mientras dure el muestreo.
- ✿ Procesamiento de las muestras (colecta de suero), identificación de las mismas por grupos, acondicionamiento de los viales en termos y entrega a la Oficina Distrital.
- ✿ Asegurar provisión de cantidades suficientes de hielo, para mantener la refrigeración y que la calidad de conservación de los sueros, sea la más óptima posible, ya que de esto depende la calidad de las muestras.
- ✿ Geo-referenciación de todas las UPM (Predios) y su asentamiento en el Formulario de Visita Previa.
- ✿ La Brigada estará conformada por tres técnicos, el Veterinario Oficial del SENASAG, el responsable de la brigada, un técnico de campo dependiente del Gobierno Departamental, un técnico representante de algunos de los países miembro del C. V. P.

V. ACCIONES PREVIAS A LA TOMA DE MUESTRAS.

Todas las actividades deberán enmarcarse al cronograma del estudio serológico, establecido por la Coordinación Técnica.

CRONOGRAMA DEL ESTUDIO SEROLÓGICO



5.2 IDENTIFICACIÓN DEL PREDIO.

La Coordinación Técnica, emitirá una lista de los predios seleccionados, en base a criterios establecidos en la elaboración del diseño. Estos datos serán entregados a la sub-coordinación departamental, misma que encaminara al responsable de brigada (Veterinario Local del SENASAG).

Esta lista contiene: nombre del predio y nombre del productor con registro catastral y otros datos que permitan al Servicio Veterinario Local, planificar el trabajo de serología.

REQUISITOS Y MATERIALES

- Lista de predios seleccionados.
- Formularios de visita previa.
- Medios de comunicación (Celular, Centro de llamadas, Línea gratuita).
- Lista de contactos.
- Maletín Veterinario.
- GPS.
- Combustible.
- Vehículos.



El responsable de brigada, en base al listado recibido para su jurisdicción, deberá establecer un cronograma de muestreo a partir del cual se planifique las Visitas Previas a los predios, para comunicar, informar y verificar datos para la toma de muestras.

21

5.2 COMUNICACIÓN AL PROPIETARIO DEL PREDIO.

La Coordinación Técnica, emitirá, una nota de comunicación bajo formato establecido en el (Anexo N° 1) en la que se informa al propietario, que su predio será sujeto a una encuesta oficial de serología; el veterinario local deberá entregar al propietario del predio la nota, al mismo tiempo informará el alcance del estudio, la necesidad de identificar los animales bajo estudio, el tiempo de duración del estudio, las restricciones de movimiento a todos los animales comprendidos en el grupo etéreo a muestrear y la posibilidad de realizar estudios complementarios. Como constancia, esta nota deberá ser firmada por el receptor y archivada en la oficina local del SENASAG.

El responsable deberá presentar su cronograma local de muestreo hasta el 01 de Julio de 2013, este cronograma se elaborara en base a las notas de comunicación recepcionadas por los propietarios, así como las fechas acordadas. Ver formato de cronograma. (Anexo N° 3).

En el caso que se constate que el predio no cuente con la cantidad de animales del grupo etéreo establecido para el estudio, el responsable de la brigada, notificará esta situación de manera inmediata (en un tiempo no mayor a 12 horas), al responsable de comunicación Centro de Llamadas a la Línea Gratuitas del SENASAG N° 800-13-8080.

El responsable de brigada, a partir de la notificación hecha al Call Center, recibirá en un tiempo no mayor a 12 Hrs. el nombre y datos de un nuevo predio a ser considerado en el estudio, con el cual procederá de la misma manera para los fines de comunicación.

El único nivel de la estructura de serología, con la potestad de asignar cambios en la lista inicial de predios, es la Coordinación Técnica de Serología.



5.3 VISITA PREVIA.

La visita previa a los predios seleccionados para el muestreo, se hará con el objetivo de: Informar al propietario y/o responsable del establecimiento seleccionado para la encuesta serológica, verificar las condiciones de infraestructura necesarias para el manejo, así como la cantidad de animales a ser muestreados. Se verificará el estado de los caminos de igual forma se trazará la ruta al predio con el GPS. Estos datos serán descritos en el formulario de Visita Previa. (Anexo N° 2).

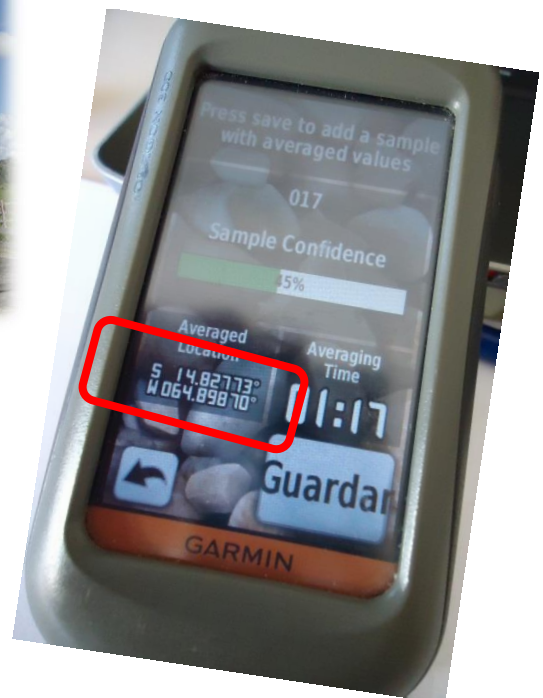
En esta visita, se coordinará con el propietario o responsable del personal del establecimiento la fecha de colecta, la reunión efectiva de los animales de la categoría etérea establecida en el corral o área de trabajo en el día convenido.

5.5 GEO-REFERENCIA.

Es necesario contar con este dato y en caso en que no esté registrado en el sistema, obligatoriamente se tomará el punto conforme a los procedimientos establecidos para este fin en el catastro pecuario. Las unidades de registro de la Geo-referencia serán en el sistema Geográfico (Grados decimales).

Ejemplo:

Longitud X : -69,76543°
Latitud Y: -18,54367°



VI TOMA DE MUESTRAS.

6.1 MATERIAL Y EQUIPO DE MUESTREO.

El responsable de la brigada de muestreo, deberá preparar los materiales y equipos necesarios para la toma de muestras y transporte a la oficina local.

Maletín de trabajo.

- ☐ Jeringas Desechables de 20 ml
- ☐ Agujas Hipodérmicas 18 x 1 x ½
- ☐ Desinfectante yodo, o alcohol
- ☐ Sogas de perlón
- ☐ Abre bocas
- ☐ Mocheta
- ☐ Cepillos limpia cascos
- ☐ Termómetros
- ☐ Manual
- ☐ Bolígrafo
- ☐ GPS
- ☐ Tablero de campo
- ☐ Bolsas plásticas Grandes para material usado y de descarte.
- ☐ Botellas PETT para agujas usadas

Material Muestreo.

- ☐ Tubos vacutainer tapa roja de 10 ml.
- ☐ Agujas para vacutainer
- ☐ Adaptadores para vacutainer
- ☐ Gradillas
- ☐ Guantes de Látex
- ☐ Algodón
- ☐ Guantes desechables
- ☐ Formularios
- ☐ Medio Valle

Material para identificación del animal

- ☐ Caravanas o aretes numerados secuencial mente
- ☐ Aplicador de Arete
- ☐ Alicate (pequeño)
- ☐ Desinfectante
- ☐ Algodón

Material de obtención de suero

- ☐ Centrifuga
- ☐ Viales tapa rosca
- ☐ Pipetas descartables
- ☐ Marcador indeleble punta fina

Material para el transporte de muestras

- ☐ Cajas térmicas Plastrofor x 15 Ltrs.
- ☐ Cajas porta viales
- ☐ Bolsas pequeñas para muestras
- ☐ Hielo (botellas pequeñas)
- ☐ Cinta de embalaje

Otros materiales

- ☐ Paños de tela (para extracción de lengua)
- ☐ Mochila manual para desinfección
- ☐ Valdes de 10 litros
- ☐ Botas de Goma
- ☐ Overol de trabajo
- ☐ Cinta Maskin

6.2 SELECCIÓN DEL ANIMAL.

El grupo etéreo de estudio serán, bovinos entre 6 –24 meses de edad; es necesario que todos estos animales estén en un solo corral, para que cada animal tenga la misma probabilidad de ser incluido en la muestra.

En una muestra aleatoria sistemática, se seleccionan animales pertenecientes a una población compuesta por **N** animales.

La cantidad de animal a ser seleccionados (**n**) (Anexo N° 5) será seleccionado en intervalos regulares al paso de la manga (**N/n**).

El cumplimiento de esta tarea habilita a que el equipo de colecta seleccione el número requerido de unidades elementales con edad entre los 6 y 24 meses.



Ejemplo:

Si la tabla indica que deben ser tomadas 30 muestras. Para obtener una muestra de 30 animales en un rebaño de 390 bovinos entre 6 y 24 meses:

1. *Determine al intervalo del muestreo utilizando el siguiente cálculo.*

$$N/n = 390/30 = 13$$



2. *Haga que los animales pasen por la manga; sangre el animal 01, después sangre en intervalos de 13 animales ($N/n=390/30=13$). Lo cual significa que serán sangrados los animales 1, 14, 27, 40, 53 hasta completar las 30 muestras.*



En caso que no se cuente con una manga para la selección de los animales, el responsable de brigada, seleccionara al azar los animales hasta completar el la cantidad requerida de animales.

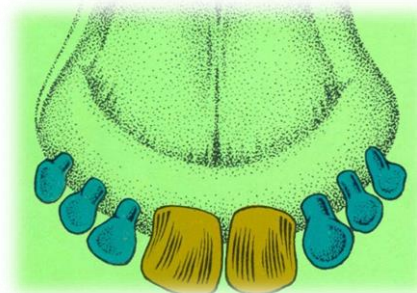
6.3 CONFIRMACIÓN DE LA EDAD DE LOS ANIMALES SELECCIONADOS.

El bovino, desde que nace hasta que muere, sufre en su dentadura un proceso evolutivo que es necesario conocer para poder fijar su edad; deben observarse cinco períodos, que corresponden a distintas etapas de su vida. En esta ocasión nos fijamos en las primeras etapas únicamente, pues el objetivo del muestreo son los animales bovinos de 6 a 24 meses.

Animal menor a 10 meses.



Animal de 12 meses.



6.4 INSPECCIÓN CLÍNICA DE LOS ANIMALES.

Se debe efectuar inspección clínica en todos los bovinos muestreados y describir lo observado en los espacios asignados en la planilla de colecta. (Anexo N°4).



Inspección Clínica de los animales antes de sangrar.



6.5 SANGRADO DE LOS ANIMALES.

La sangre podrá ser obtenida de las venas yugular y/o caudal.

A continuación se explica los dos métodos más comunes y de fácil acceso:

Toma de Muestra de la Cola.

Una de las técnicas más comunes y fáciles para tomar muestras de sangre en bovinos es a través de las arterias y venas coccígeas.

Una vez inmovilizado el animal, se levanta la cola en línea recta para exponer la zona del ano y de esta forma poder acceder a la arteria o vena en su defecto (Recomendado para animales sujetos en brete)



Antes que nada se tiene que limpiar la zona.

La aguja se coloca en el punto medio del canal de la cola, esto se identifica después de palpar la ubicación de las vértebras, después de localizadas se introduce la aguja en línea horizontal hasta sentir el hueco por donde pasa los vasos sanguíneos.



Cuando se ha introducido la aguja en la luz de los vasos sanguíneos, se empuja el tubo hasta que el vacío extraiga la sangre de una forma casi inmediata.



Toma de muestra de la Región del Cuello.

La vena yugular puede ser destacada presionando con los dedos el canal Yugular. El vaso prominente se ve bien en la mayoría de los Bovinos y se palpa fácilmente en los animales. Tiene aproximadamente 2 cm. de diámetro. Se introduce en la vena la Aguja Vacutainer, en un ángulo de 45 grados en dirección a la Vena Yugular.



6.6 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

La muestra de sangre, una vez extraída debe identificarse con el número correspondiente a la identificación del animal (Nº del arete). Para el efecto se usará marcador indeleble.

La identificación del animal será mediante dispositivos de tipo BOTÓN.



6.7 IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL SANGRADO.

Todos los animales serán identificados mediante dispositivos del tipo Botón, esta debe ser implantada en la oreja izquierda, en caso de que este ocupado la oreja se, implantara en la oreja libre, de acuerdo al siguiente procedimiento:

Coloque la parte macho de la caravana en la aguja de la pinza, y la parte hembra en la base de la pinza.



Diluir desinfectante en agua, para evitar eventuales infecciones.



Desinfectar por inmersión la pinza con la caravana colocada.



Limpiar el área de aplicación con la solución de desinfectante. Sera elegida la oreja libre, derecha o izquierda indistintamente.



Aplique la caravana entre las nervaduras centrales.



Se recomienda la aplicación de un repelente de moscas, precediendo oportunamente a la desinfección de la cicatriz, de ser necesario.

Aplicación Correcta.



Aplicación Incorrecta.



6.8 LLENADO DE FORMULARIOS.

La información del predio y los animales muestreados, son de mucha importancia, estos deberán ser inscritos en el formulario de Toma y Remisión de Muestras. (Anexo N° 4).

 **SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA E INOCUIDAD ALIMENTARIA**

**FORMULARIO DE TOMA Y REMISIÓN DE MUESTRAS
E INSPECCIÓN CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA**

DEPARTAMENTO: _____ MUNICIPIO: _____ PROPIETARIO: _____

MUESTREO: Inicial: ☐ Complementario: ☐ N° CLÚSTER: _____ GEO REFERENCIA: _____ Latitud: _____ Longitud: _____

COD. CATASTRAL: _____

No.	ARETE /ID	ESPECIE	GRUPO ETAREO			ESTUDIO		TIPO DE MUESTRA	NACIDO EN LA UP?		N° DE VAC.	INSPECCIÓN CLÍNICA				
			6-12	13-24	>24	C.V.	IP.		SI	NO		T °C	Boca	Ubre	Pata	
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
11																
12																
13																
14																
15																
16																
17																
18																
19																
20																
21																
22																
23																
24																
25																
26																
27																
28																
29																
30																

N= Normal S= Salivación C= Cojera F= Fiebre V= Vesículas L= Lesión

OBSERVACIONES: _____

Fecha de Recolección: ____/____/____ Fecha de Envío a Lab.: ____/____/____

Propietario o Responsable del Predio: _____ Servicio Veterinario Local: _____

Nombre y Firma: _____ Sello y Firma: _____

SELLO LABORATORIO

RESERVADO PARA LABORATORIO

Fecha de Recepción: ____/____/____

6.9 SISTEMATIZACIÓN DE DATOS DE FORMULARIOS.

Los datos del formulario de Toma y Remisión de muestras, deberán ser ingresados al sistema PAITITI, Modulo Vigilancia activa. Esta actividad se realizara en la oficina local (que cuente con internet) o en Oficina distrital, por el responsable de la brigada, antes de la entrega de muestras a los centros de acopio.

ACCESO AL MODULO DE VIGILANCIA ACTIVA

Código Control	Productor	Predio	Departamento	Provincia	Municipio	Gestión	Nro Estudio	Muestreo	Cl
291	SHIRIQUI VEJARANO ISAAC	4 HERMANOS	Beni	Marbán	San Andrés	2013	1	Inicial	
289	NACIF HIZA ANTONIO	4 HERMANOS	Beni	Yacuma	Santa Ana	2013	1	Inicial	
288	RIVERO PARADA DANIEL ANTONIO	EL OCHO - PROGRESO	Beni	Cercado	San Javier	2013	1	Inicial	
283	DAVIEDS VILLAROELO ROBERTO CARLOS	VILLAZON	Beni	Yacuma	Santa Ana	2013	1	Inicial	
269	NÚÑEZ DEL PRADO ARANA JORGE GUILLERMO	RANCHO LA CALDERA	Santa Cruz	Warnes	Warnes	2013	1	Inicial	
268	GUTIERREZ SERRATE OSVALDO	MONTERREY	Santa Cruz	Warnes	Warnes	2013	1	Inicial	
266	PARADA ORTIZ JUDITH VIRGINIA	MONTE CRISTO	Santa Cruz	Warnes	Warnes	2013	1	Inicial	
265	CALVO MOSCOSO LUIS FERNANDO	LA ABRA II	Santa Cruz	Warnes	Warnes	2013	1	Inicial	
263	LENKE AVILA ESTEFAN	ALGARROBO	Santa Cruz	Warnes	Okinawa	2013	1	Inicial	
261	GUILLAUX BALCAZAR JULIO	EL PIÑAL	Santa Cruz	Andrés Ibáñez	Santa Cruz de la Sierra	2013	1	Inicial	
260	PANIAGUA VARGAS MARCO DANIEL	EL ALMENDRO	Santa Cruz	Andrés Ibáñez	Santa Cruz de la Sierra	2013	1	Inicial	
259	ABELLA TARRADELLES GABRIEL	DON GABRIEL	Santa Cruz	Andrés Ibáñez	Santa Cruz de la Sierra	2013	1	Inicial	

VII. ACONDICIONAMIENTO Y REMISIÓN DE MUESTRAS.

El veterinario de campo es responsable de acondicionar las muestras y garantizar la calidad de las mismas, hasta entregar las muestras en el centro de acopio.

7.1 CONSERVACIÓN DE LA MUESTRAS.

La muestra una vez tomada del animal, deberá ser depositada en gradillas, si no se cuenta con estos, se usaran los recipientes en los que los tubos son otorgados. Para garantizar la separación del suero, es aconsejable depositar el tubo con un ángulo de 45°. Esto ocurrirá en el lapso de una a dos horas, tiempo en que la brigada realiza su trabajo en el predio.



*Formación y separación
del coágulo*



7.2 OBTENCIÓN DE SUERO – CENTRIFUGADO.

Esta actividad podrá ser realizado, en el predio, si se cuenta con electricidad y centrifugadora, caso contrario, la obtención del suero se realizara en la oficina local.

Velocidades y tiempo de centrifugado: (se elige uno de los dos).

4.000 rpm x 3tres minutos.

2.000 rpm x 4cuatrominutos

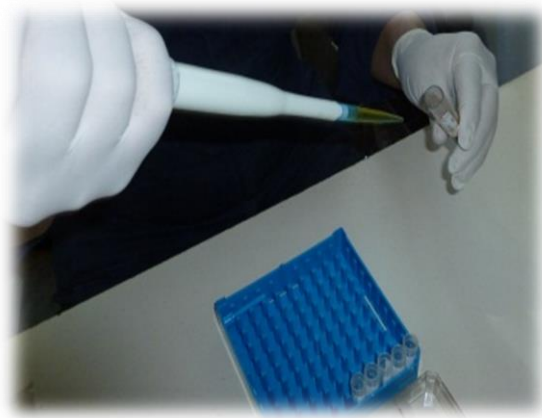


Pasos:



1. Destaparla centrifuga.
2. Colocar los tubos uno frente al otro, equilibrando las cantidades de sangre contenida en los mismos, lo que significa:
 - Tubos con poca cantidad de sangre colocar frente a otro con poca cantidad de sangre.
 - Tubos con mayor cantidad de sangre colectada, colocar frente a otro con igual cantidad.
 - Si se tiene cantidad impar de tubos, se podrá equilibrar la centrifugadora, con otro tubo llenado con la misma cantidad de agua.
3. Tapar y asegurar la tapa de la centrifuga.
4. Seleccionar la cantidad de revoluciones por minuto.
5. Seleccionar el tiempo.
6. Poner en marcha.

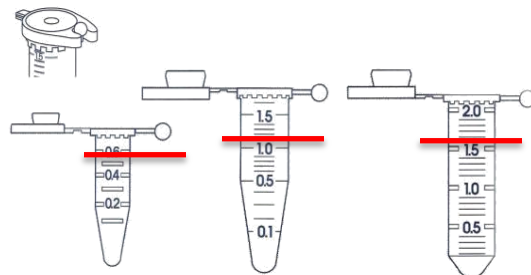
Generalmente emite un timbre al terminar, aguardar unos segundos que pare de girar la centrifuga.
7. Retirar y proceder al pipeteado del suero color ámbar y traspasarlo a los viales o micro-tubos. Utilizar una puntera de micro-pipeta por suero a ser pipeteado, luego desechar.



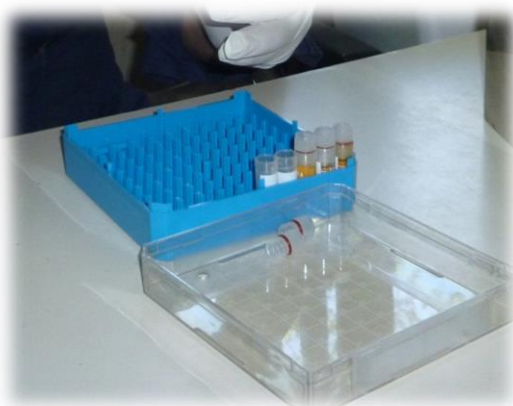
Suero de buena calidad



1. La cantidad de suero debe ser 3/4 partes de la capacidad del vial. Nunca llenar totalmente el vial porque en el proceso de congelación produce presión interna al vial.



2. Identificar los viales, con el mismo número del tubo en el cual se ha tomado la muestra y que corresponde a la identificación del animal muestreado.



Refrigerar los sueros en los viales. Deberán ser acomodados en cajas de conservación dotadas por la comisión técnica.

41

7.3 EMPAQUE Y ENTREGA DE MUESTRAS - ENVÍO AL CENTRO DE ACOPIO.

Las muestras deben ser transportadas exclusivamente por el responsable de brigada, desde su lugar de extracción hasta el centro de acopio o a la oficina distrital, previa comunicación de fecha y hora de llegada a la sub-coordinación departamental. La frecuencia deberá ser, semanal como máximo si se cuenta con equipos de refrigeración.

Las Cajas Porta viales que contienen las muestras de suero deben ser debidamente identificadas y embaladas en cajas térmicas garantizando su refrigeración.

Ejemplo:

Departamento:	<i>Beni</i>
Provincia:	<i>Vaca Díez</i>
Municipio:	<i>Riberalta</i>
Predio:	<i>Los Tocos</i>
Cantidad muestras:	<i>50</i>
Números:	<i>5001 - 5050</i>

Las muestras de suero deben ser entregadas por el veterinario local del SENASAG, en el centro de acopio, previamente verificadas y organizadas, acompañadas por los respectivos formularios de colecta, (impresa del sistema Modulo de Vigilancia Activa) y firmados por el veterinario responsable de la brigada.

42

En el centro de acopio deberá garantizar la conservación de las muestras en refrigeración, hasta el envío de las muestras al laboratorio.

El responsable departamental del acondicionamiento de las muestras, o el sub coordinador zonal, al momento de recibir las muestras, deberá cotejar los datos del formulario impreso con el número de muestras (viales), además de la calidad del suero.

En ambos casos; cuando el veterinario de campo entregue las muestras al centro de acopio y cuando el centro de acopio entregue o envíe las muestras al laboratorio, se deberá



garantizar la integridad de las muestras, información y la cadena de frío.

Las cajas porta-viales, deben estar rodeadas por contenedores de hielo en capas alternas con hielo.

La última capa, obligatoriamente debe ser hielo. Si el estimado de llegada de las muestras al laboratorio excede el período de 12 horas, las paredes internas de las cajas también se deben cubrir con hielo. Para asegurar el mantenimiento de la temperatura interna. Los espacios vacíos deben llenarse con hojas de periódico. La tapa de la caja térmica se debe sellar con cinta adhesiva.

Para el aprovechamiento de las cajas porta viales y en el caso de contar con espacio para la colocación de muestras de otro predio, se dejara un espacio vacío, mismo que representara el inicio de muestras de un predio diferente. En la tapa de la caja se colocara un adhesivo con el nombre de los predios muestreados y la cantidad de muestras.

Departamento:	<i>Beni</i>
Provincia:	<i>Vaca Díez</i>
Municipio:	<i>Riberaíta</i>
Predio:	<i>Los Tocos</i>
Cantidad muestras:	<i>50</i>
Números:	<i>5001 - 5050</i>
Predio:	<i>Esperanza</i>
Cantidad muestras:	<i>45</i>
Números:	<i>5085 - 5130</i>

En el caso de un mismo predio haya sido seleccionado tanto para el estudio de Circulación Viral e Inmunidad Poblacional, se usaran cajas separadas para cada estudio indefectiblemente. Será aprovechado el suero tomado de los tubos para el grupo etéreo de 6 a 24 meses para constituir la muestra necesaria para el estudio de inmunidad poblacional

pero dispuesta en viales por separado y en otra caja. También será posible disponer muestras para el estudio de inmunidad poblacional de diferentes predios en una misma caja porta viales escribiendo en la caja el tipo de estudio y los predios en estudio.

VIII. RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN LABORATORIO.

En LIDIVET. el responsable de recepción de muestras, deberá verificar la consistencia de los datos comprendido en el sistema informático, en los formularios de colecta, el orden y calidad de las muestras. Este procedimiento asegurara la trazabilidad de los resultados obtenido con el origen de las muestras remitidas.

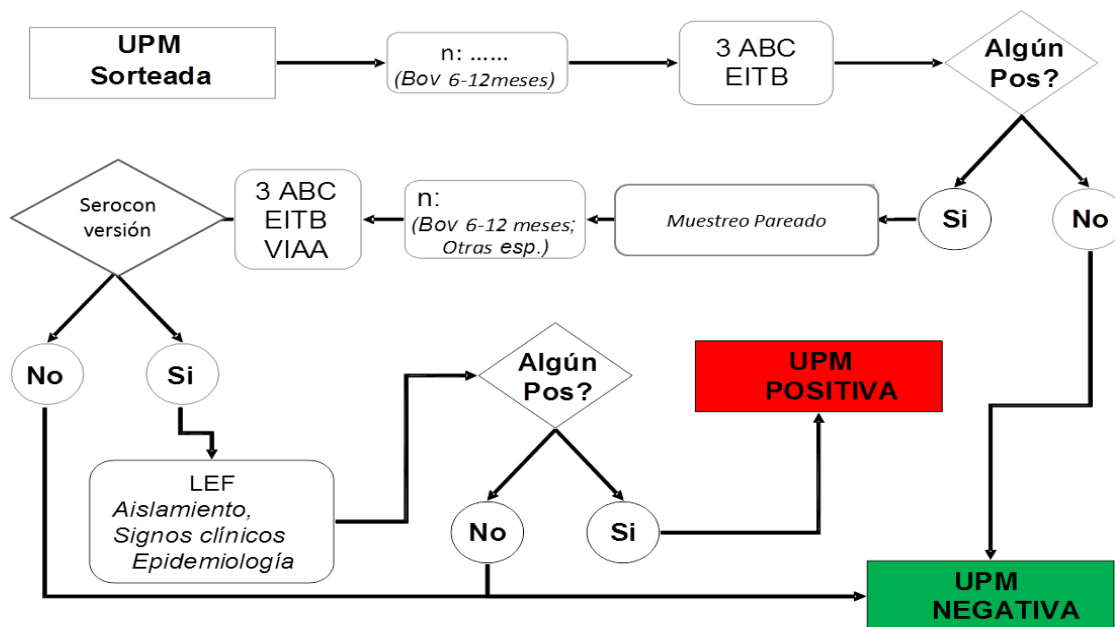
Los sueros serán analizados por el sistema **ELISA 3ABC/E.I.T.B.**

Las muestras se consideran ENTREGADAS, solo cuando sea verificado por el responsable de recepción de muestras del LIDIVET.



IX. RESULTADOS DE LABORATORIO.

El LIDIVET, como laboratorio de referencia de enfermedades vesiculares, otorgará los resultados del estudio a la Coordinación Técnica, solo esta instancia deberá conocer los resultados y analizar para los pasos a seguir.



X. ESTUDIO COMPLEMENTARIO.

Una vez analizado los resultados por la Coordinación Técnica, se definirá los lineamientos del Estudio Complementario, si así lo requiere el estudio.

Serán considerados para el estudio complementario, predios que presentaron por lo menos un animal reactor al sistema ELISA 3 ABC/EITB.

Los propietarios de los predios, serán informados por la Coordinación Técnica, sobre las acciones que se tomaran sobre los animales y el tiempo de duración del estudio complementario.

XI. ANEXOS.

Anexo N° 1.



MINISTERIO DE DESARROLLO RURAL Y TIERRAS
VICEMINISTERIO DE DESARROLLO RURAL Y AGROPECUARIO
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA E INOCUIDAD ALIMENTARIA



Trinidad, 21 de Mayo de 2013

Señor:

Santa Cruz.

Ref.: **COMUNICACIÓN SELECCIÓN DE PREDIO PARA ESTUDIO SEROLÓGICO 2013**

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con el objeto de comunicarle que el SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA E INOCUIDAD ALIMENTARIA - **SENASAG** en el marco del Programa Nacional de Erradicación de la Fiebre Aftosa – **PRONEFA**, realizará un Estudio Serológico a Nivel Regional para descartar Circulación del virus de la Fiebre aftosa en la región y país.

En ese sentido comunicamos a usted su predio ubicado en la provincia....., municipio..... Del departamento de catastrada bajo su propiedad, ha sido seleccionado para formar parte del estudio; para este fin se tomarán muestras de sangre de bovinos comprendidos entre 6 a 12 meses de edad. Se solicita su colaboración para la fecha a ser acordada con el veterinario de su jurisdicción en el marco de un cronograma de serología (1 – 30 de junio de 2013) y que los animales de la categoría correspondiente sean llevados al corral o área de trabajo.

Como parte del estudio Además, esto implica que el establecimiento **NO** podrá realizar movimiento de animales que hayan sido muestreados, desde la fecha de colecta, hasta la comunicación oficial de los resultados laborales, y su eventual investigación complementaria.

Los bovinos muestreados serán identificados individualmente con aretes. Los dispositivos de identificación serán provistos sin costo, por el servicio Sanitario Oficial - SENASAG.

Informamos que el acto de extracción de muestras será operada por una brigada de técnicos, supervisada por un Médico Veterinario del SENASAG; la brigada llenarán un formulario con todos sus datos, datos del establecimiento, de los bovinos sangrados, población bovina existente y población de otras especies susceptibles.

Los resultados de este estudio, serán parte importante en el expediente de solicitud que hará el SENASAG a la organización Mundial de Sanidad Animal, para la certificación de Valles y Amazonia, como zona libre de fiebre aftosa con vacunación

Desde ya contamos con su colaboración, de tal modo a facilitar el trabajo de los técnicos al momento de la visita a su establecimiento.

c.c. Arch.



Dirección : Av. José Natusch Esq. Félix Sattori - Telf.: 591-3-4628105 – Fax: 591-3- 4628683
Web: www.senasag.gob.bo Trinidad - Beni – Estado Plurinacional de Bolivia

Anexo N° 2.



Estado Plurinacional
de Bolivia

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA
E INOCUIDAD ALIMENTARIA
SENASAG

FORMULARIOS DE VISITA PREVIA
ESTUDIO SEROLÓGICO 2013



BOLIVIA

N°

LOCALIZACIÓN DE LA PROPIEDAD Departamento: Provincia: Municipio: Localidad/Comunidad:	NOMBRE DEL PRODUCTOR: 2.- Código: NOMBRE DE LA PROPIEDAD: 3.- Código:
--	--

4.- Fecha de la Visita: (dd/mm/aa)/...../.....	5.- GEORREFERENCIA:	Latitud:	Longitud:
---	---------------------	--	---

REBAÑO BOVINO TOTAL EXISTENTE

< 12		13-24		25-36		> 36		TOTAL	
M	H	M	H	M	H	M	H	M	H

OTRAS ESPECIES DOMESTICAS SUSCEPTIBLES :

BUBALINOS		OVINOS		CAPRINOS		SUINOS		CAMELIDOS	
M	H	M	H	M	H	M	H	M	H

Existencia de otros propietarios de ganado /Arrendatarios: SI ☐ NO ☐ Total (un Formularios para

Venderá bovinos menores de 2 años en los próximos días ? SI ☐ NO ☐

Posee Otro Establecimiento? SI ☐ NO ☐ Distancia entre si Km.

El Predio tiene antecedentes de brote de Fiebre aftosa SI NO Fecha:/...../.....

ULTIMAS DOS VACUNACIONES CONTRA FIEBRE AFTOSA REALIZADAS EN EL REBAÑO:

DATOS VACUNA	ULTIMA VACUNACIÓN	PENÚLTIMA VACUNACIÓN
CERTIFICADO N°		
FECHA DE VACUNA		
LABORATORIO		
LOTE		

CANTIDAD DE BOVINOS MOVILIZADOS EN LOS ÚLTIMOS

PROCEDENCIA/DESTINO	CRÍA/ ENGORDE	CRÍA/ REPRODUCCIÓN	FERIA/ REMATE	MATADERO	PRODUCCIÓN DE LECHE
ENTRADA					
SALIDA					

OBSERVACIONES:

 Propietario o Responsable del Predio
 Nombre y Firma

 Servicio Veterinario Local
 Sello y Firma

TODA OBSERVACIÓN DEBERÁ SER ESCRITA EN EL REVERSO DE LA HOJA

Anexo N° 3.

CRONOGRAMA DE SANGRADO

lun	Mar	Mie	Jue	Vie	Sab	Dom
					1	2
.....*						
3	4	5	6	7	8	9
.....						
10	11	12	13	14	15	16
.....						
17	18	19	20	21	22	23
.....						
24	25	26	27	28	29	30
.....						

*Nombre del predio programado para el sangrado.

Anexo N° 4.



SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA E INOCUIDAD ALIMENTARIA



**FORMULARIO DE TOMA Y REMISIÓN DE MUESTRAS
E INSPECCIÓN CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA**

DEPARTAMENTO

MUNICIPIO

PROPIEDAD

PROPIETARIO

COD. CATASTRAL:

MUESTREO: Inicial: ☐
 Complementario: ☐

N° CLÚSTER:

GEO REFERENCIA: Latitud:
 Longitud:

No.	ARETE /ID	ESPECIE	GRUPO ETAREO			ESTUDIO		TIPO DE MUESTRA	NACIDO EN LA UP?		N° DE VAC.	INSPECCIÓN CLÍNICA			
			6-12	13-24	>24	C.V.	IP.		SI	NO		T °C	Boca	Ubre	Pata
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															
11															
12															
13															
14															
15															
16															
17															
18															
19															
20															
21															
22															
23															
24															
25															
26															
27															
28															
29															
30															

N= Normal S= Salivación C= Cojera F= Fiebre V= Vesículas L= Lesión

OBSERVACIONES:

Fecha de Recolección: ____/____/____
 Propietario o Responsable del Predio
 Nombre y Firma

Fecha de Envío a Lab.: ____/____/____
 Servicio Veterinario Local
 Sello y Firma

SELLO
LABORATORIO

RESERVADO PARA LABORATORIO
 Fecha de Recepción: ____/____/____

Anexo N° 5.

UNIDADES ELEMENTALES	
BOVINOS 6 A 24 MESES	
(momento de la colecta)	
EXISTENTES	A SELECCIONAR
< 20	Todos
21 a 39	21
30 a 39	24
40 a 49	27
50 a 79	30
80 a 99	32
100 a 199	35
200 a 399	36
400 a 499	37
>500	60

Anexo N° 6.

Esquema de flujo de levantamiento de información de datos.

