

# Manual de Obtención y Envío de Muestras para el Diagnóstico

de Enfermedades en Peces 2017



**SENASICA** nos protege a todos

**SAGARPA**  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,  
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,  
PESCA Y ALIMENTACIÓN



**SENASICA**  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INOCUIDAD Y CALIDAD  
AGROALIMENTARIA







**Manual de**

## **Obtención y Envío de Muestras para el Diagnóstico**

de Enfermedades en Peces 2017





# CONTENIDO

Introducción	5
Material	7
Toma y Envío de Muestras	9
Obtención de Branquias	11
Obtención de Bazo	13
Problemas y Errores Recurrentes en la Toma y Envío de Muestras	15
Consideraciones Generales	17
1) Identificación de muestras	17
2) Acondicionamiento y envío de muestras	17
3) Recepción de muestras	18





# INTRODUCCIÓN

Este manual está dirigido a personal técnico de campo encargado de la vigilancia epidemiológica activa de las enfermedades que afectan a los peces.

Los procedimientos contenidos están aprobados por el SENASICA únicamente para la obtención de muestras dirigidas al diagnóstico de los siguientes agentes.

- Virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHN)
- Virus de la septicemia hemorrágica viral (VHS)
- Virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPN)
- Francisella spp.
- Virus causante de la viremia primaveral de la carpa (VPC)
- Herpesvirus de la carpa koi (KHV)









# MATERIAL

**A**ntes de comenzar con el muestreo, es importante que el técnico responsable verifique que cuenta con los materiales del siguiente listado en cantidades suficientes.

- Guantes (látex o nitrilo) libres de talco
- Atarraya, red o canasta limpia y desinfectada
- Pinza de disección de acero inoxidable
- Tijera de disección de acero inoxidable
- Tubos de 50 ml (recomendado Falcon®)
- Pipeta de 250 ml
- Etanol no desnaturalizado\* (alcohol etílico absoluto)
- Plumón indeleble
- Papel parafilm
- Solución descontaminadora de ácidos nucleicos\*\*
- Lápiz
- GPS
- Bolsas de plástico de 20 x 30 cm (tipo Ziploc®)
- Hielera y/o bolsa térmica
- Gel refrigerante
- Etiquetas
- Cinta Canela

(\*) El alcohol desnaturalizado o el alcohol de farmacia, contiene componentes que afectan los procesos de obtención de ácidos nucleicos, (cloruro de benzalconio, acetona, entre otros), por este motivo no deben ser utilizados.

(\*\*) Los descontaminadores de ácidos nucleicos reducen riesgos de contaminación cruzada. Se recomienda utilizar:

A. Solución de cloro al 10% (obtenido a partir de alguna marca comercial por ejemplo Clorox®).

- Retire las partículas gruesas de tejido que se encuentren en el material (pinzas).
- Sumerja el material en la solución y espere 10 minutos.
- Realice un enjuague con agua destilada y seque perfectamente, ya que los residuos de cloro afectan la integridad de las muestras.

Importante: La solución de cloro al 10% no debe tener más de 24 horas de haber sido preparada, y el envase original, no más de 2 meses de haberse abierto.

B. Soluciones descontaminadoras comerciales como: Exitus Plus de la marca AppliChem®.



- Retire las partículas gruesas de tejido que se encuentren en el material.
- Sumerja el material en la solución, espere 10 minutos y seque.
- Finalmente estará listo para su uso.

Nota: Una solución con alcohol no elimina los ácidos nucleicos.



# TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS

La selección del tipo de muestra y el medio para su preservación dependerá del agente a diagnosticar, el tipo de análisis solicitado y los recursos de quien realice el muestreo. Los materiales elegidos deben asegurar el mantenimiento de la integridad de las muestras.

1. Preséntese ante el responsable de la unidad de producción y explique el motivo de la visita.
2. Obtenga el punto de geoposición a la entrada de la unidad de producción.
3. Solicite se designe a una persona que tenga conocimiento de las actividades que se llevan a cabo en la unidad de producción, para que lo acompañe y en caso necesario, apoye durante la obtención de la muestra.
4. Seleccione los estanques a muestrear considerando la signología clínica de enfermedad. En caso de no presentar signología clínica evidente, realice la selección de los organismos a estudiar con base en factores de riesgo para la presentación de enfermedades. Considere que se debe obtener un mínimo de cinco organismos por estanque. Cuando el número de estanques sea reducido, distribuya la muestra siempre usando múltiplos de cinco (para elaborar pools de cinco organismos para el diagnóstico).
5. La técnica de obtención de muestras debe ser la misma que la utilizada por la unidad de producción para sus actividades de evaluación.

Se necesita obtener un mínimo de 15 muestras provenientes de 15 ejemplares por unidad de producción, divididas en 3 pools con 5 porciones de tejido cada uno. Para el diagnóstico de IHN, VHS, IPN y *Francisella* spp. el tipo de muestra corresponde a bazo, mientras que para el diagnóstico de VPC y KHV, el tipo de muestra corresponde a branquia.

Las muestras dirigidas a diagnóstico molecular se enviarán sumergidas en etanol no desnaturalizado, dentro de un empaque que asegure la integridad de la muestra y evite derrames; todas las muestras deberán ir perfectamente identificadas.





# OBTENCIÓN DE BRANQUIA

1. Es necesario el uso de guantes durante el proceso de obtención de branquias.
2. Con ayuda de una pinza de disección y tijera (previamente descontaminados), tome el tejido branquial, como se muestra en la figura 1.



Figura 1.  
Obtención de branquia

3. Destape el tubo y coloque en su interior el tejido branquial de cinco organismos, agregue etanol no desnaturalizado hasta cubrir totalmente el tejido y cierre el tubo.





# OBTENCIÓN DE BAZO

1. Es necesario el uso de guantes durante el proceso de obtención de bazo.
2. Con ayuda de una pinza de disección y tijera (previamente descontaminados), realice un corte en la región abdominal desde el ano hasta la región de las branquias, corte el abdomen de manera que le permita exponer los órganos internos (Figura 2).





Identifique el bazo (Figura 3), corte una porción del órgano de cada uno de los peces y colóquela en un tubo (5 muestras en cada tubo) adicione etanol no desnaturalizado hasta cubrir el tejido.



Figura 3.  
Identificación del bazo

# PROBLEMAS Y ERRORES RECURRENTES EN LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS

La estandarización del proceso de toma y envío de muestras, es una práctica que influye directamente en el resultado de los análisis, por lo tanto, se debe considerar que distintas personas pueden realizar diferentes prácticas durante la toma de muestras, y una misma persona puede tomar muestras de distinta manera cuando las circunstancias cambian en cada situación, por ello se debe mantener una supervisión constante del personal encargado de la operación.

## 1) Viales saturados de tejido

Las muestras para diagnóstico pueden ser enviadas al laboratorio en pools de muestras, conformados por un total de 5 organismos, tomando una sola porción de tejido por cada pez.

La excesiva cantidad de tejido branquial o esplénico en un mismo tubo, dificulta la selección de la muestra a procesar y provoca la mala fijación del tejido (el etanol debe encontrarse en una proporción de 4 volúmenes de alcohol con respecto al tejido para garantizar la conservación adecuada de la muestra), afectando la calidad del ácido nucleico que se desea purificar, por ello solo debe incluir 5 organismos en cada pool.

## 2) Viales saturados de etanol

El llenado excesivo del tubo con etanol puede provocar que la integridad de las muestras se vea afectada.

Los tubos que se envían al laboratorio con cantidades de alcohol que sobrepasan el volumen máximo que puede este contener, pueden abrirse durante el envío derramando el etanol, lo cual afecta la integridad de la muestra, además puede provocar que la identificación sea borrada. Si las tapas no se encuentran bien cerradas, el contenido puede derramarse a pesar del uso de parafilm al momento del sellado de los tubos.

Los problemas de derrames se pueden reducir incrementando el número de precauciones durante el envío al laboratorio: utilizar las cantidades de tejido sugerido en viales o contenedores adecuados, colocar la cantidad adecuada de etanol como conservador, utilizar un buen sellado de los tubos para evitar el derrame del etanol durante el traslado de las muestras al laboratorio (el manejo de la paquetería es un factor que no podemos controlar).





Se sugiere el envío de las muestras en soportes rígidos (como gradillas comerciales o bases de unicel), que eviten que los tubos se muevan, volteen y choquen entre sí, lo que puede evitar que se abran (Figura 4).



Figura 4.  
Muestras acomodadas en base rígida para su envío al laboratorio

# CONSIDERACIONES GENERALES

## 1) Identificación de muestras

Se asignará un número de identificación a cada tubo de muestra enviado, que consistirá en las siglas del estado, el número de la granja muestreada y el número de la muestra (del 1 al 15), como se observa en el siguiente ejemplo:

SIN-01-11-15 = Sinaloa, granja 1, muestra 11 a 15.

El número de identificación será anotado con lápiz en un trozo de papel, y posteriormente será introducido dentro del tubo que contenga la muestra correspondiente.

Adicionalmente, acompañando a las muestras enviadas se deberá incluir un formato con la relación de las muestras incluyendo los siguientes datos:

- Nombre de la unidad de producción;
- Nombre del propietario;
- Ubicación de la unidad de producción (estado, municipio, localidad);
- Fecha de obtención de la muestra;
- Especie: Nombre común y/o científico;
- Análisis solicitado.

## 2) Acondicionamiento y envío de muestras

- Los tubos deberán ser preferentemente colocados en una base de unigel o base comercial, previamente identificados y sin duplicar el número asignado a cada una, asegurándose de que estos queden bien cerrados e inmóviles sobre el unigel (Figura 5).

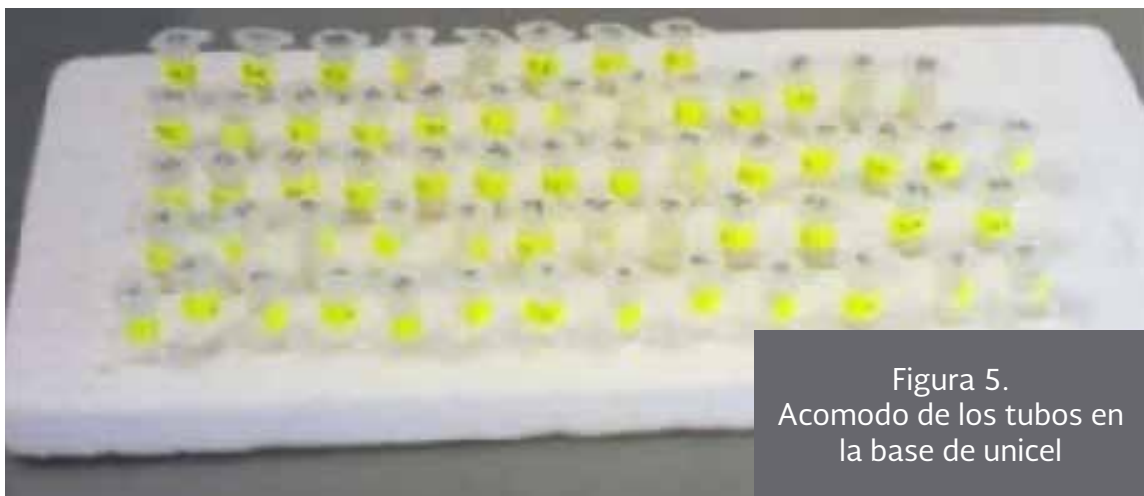


Figura 5.  
Acomodo de los tubos en  
la base de unigel

- Todos los empaques de muestras (bolsas, tubos, bases de unicel) deben ir acompañados por la solicitud de servicios y la identificación correspondiente.
- Introduzca las muestras al interior de la hielera de plástico o unicel e incluya el formato con la relación de las muestras enviadas dentro de una bolsa de plástico para evitar que entre en contacto con líquidos (Figura 6).
- La caja debe estar herméticamente cerrada con cinta adhesiva alrededor. En la parte superior de esta debe colocarse una etiqueta que indique el destinatario y los datos del remitente.



Figura 6.  
Cierre y etiquetado de  
caja de unicel

### 3) Recepción de muestras

Las muestras que se entreguen personalmente o por medio de servicios de paquetería, se recibirán en el área de recepción de muestras del laboratorio de diagnóstico, únicamente en el horario de 8:00 a 15:00 horas los días lunes, martes y miércoles.

Las muestras que no cumplan con las especificaciones contenidas en el presente manual, se declaran como no aptas y no serán procesadas para su diagnóstico, así como las muestras que se encuentren entre los siguientes supuestos:





- Cuando el empaque que contenga las muestras presente rupturas.
- Cuando las muestras presenten otro producto diferente al solicitado.
- Cuando los tubos presenten derrames en su contenido.
- Cuando las muestras se encuentren en estado de descomposición o con contaminación evidente de microorganismos.
- Cuando las muestras carezcan de alguno de los sistemas de identificación solicitados.

Las muestras serán enviadas al Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal -(CENAPA), ubicado en la carretera Federal Cuernavaca – Cuautla No. 8534 (Km 11.5), Colonia Progreso, C.P. 62550, Jiutepec, Morelos, Tel.: 01 (55) 59051000 Ext: 53139 o 53140.

- Dudas sobre:
- Campañas Fito o Zoonosanitarias
  - Movilización de Productos Agroalimentarios y Mascotas

**01 800 987 9879**

Quejas • Denuncias  
Órgano Interno de Control en el SENASICA

**+52(55) 5905 1000, ext. 51648**

**+52(55) 3871 8300, ext. 20385**

[www.gob.mx/sagarpa](http://www.gob.mx/sagarpa)

[www.gob.mx/senasica](http://www.gob.mx/senasica)

 SENASICA SAGARPA    @SENASICA    SENASICA SAGARPA

“Este programa es público, ajeno a cualquier partido político.  
Queda prohibido el uso para fines distintos a los establecidos en el programa”.