

	Toma de Muestras para Análisis Serológico y Molecular de PCV-2	INS 507-38 Versión 02 Fecha vigencia: 13/07/21
Elaborado: RC	Aprobado: DT	Pág. 1 de 2

Objetivo:

Obtener y manipular correctamente muestras para detección de *Circovirus porcino (PCV2)* por técnica serológica de ELISA y técnica molecular de Real Time PCR (qPCR).

Alcance:

Personal de Llamas Laboratorios y Servicios, profesionales responsables de la extracción de muestras.

Introducción:

El objetivo es establecer la dinámica de infección, circulación viral, cinética de anticuerpos y su relación con la utilización de inmunógenos.

Al tratarse de un estudio molecular (PCR) y debido a su alta sensibilidad deberán tomarse los recaudos pertinentes para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

El genoma viral se extraerá del suero, de modo que se procesarán muestras de suero para ambas técnicas.

Materiales:

- Tubos secos 13x75, Vacutainer o similar
- Viales eppendorf de 1,5 mL.
- Jeringas x 10 mL
- Agujas 28 x 12, 40 x 12 y 50 x 12
- Gradillas
- Planilla para asentar datos de los animales (grilla para sangrado).
- Guantes (preferentemente de nitrilo)
- Desinfectante: Solución de agua lavandina al 10%, Alcohol 70% o Amonio cuaternario

Procedimiento:

- Sujetar el animal y esperar hasta su inmovilización
- Desinfectar la piel en el sitio de punción con alcohol (utilizar un papel o algodón por animal)
- Extraer la muestra de sangre por punción de yugular, carótida o cava anterior (dependiendo del peso del cerdo). Esta maniobra deberá realizarse con cuidado y en un solo paso, logrando una extracción fluida a fin de evitar hemólisis.
- Destapar el tubo, desacoplar la aguja y verter la sangre en el mismo, ubicando el pico de la jeringa en contacto con la pared interior y en un ángulo de 45°.
- Descartar jeringa y aguja
- Desinfectarse los guantes
- Proceder a extraer muestras del siguiente animal con jeringa y agujas nuevas
- Dejar reposar las muestras por 2 a 3 hs a temperatura ambiente
- Centrifugar la muestra, trasvasarla a los Eppendorf y almacenarla a -20°C. En caso de trasvasarla con jeringa y aguja, éstas deberán descartarse con cada muestra

Reactivos a utilizar:

- PCR Real Time con cuantificación de carga viral (qPCR): *Porcine Circovirus Type 2 DNA Test Kit*, Biochek
- ELISA *Circovirus Porcino PCV2*: *Porcine Circovirus Type 2 Antibody Test Kit*, Biochek

Esquema de muestreo

Se tomarán 20 muestras por categoría, de modo de contar al finalizar el muestreo con 10 sueros de cerdos que hayan estado presentes en la totalidad de las extracciones.

Elección de las categorías a muestrear, tamaño de muestreo final:

- Se tomarán 10 (diez) muestras de sangre por cada categoría de animales de la Línea de producción, con un intervalo de 20 días entre cada categoría (o tres semanas); comenzando por lechones precalostrales y finalizando en cerdos pre faena.
- Se tomarán 5 (cinco) muestras de hembras de diferentes categorías: Cachorras de reposición (de 180, 200, 220 y 240 días), 0 parto, 1º parto, 3º partos y > ó = 5 partos.

Resumiendo:

Reproductoras		Línea de producción	
Cantidad muestras	Categoría (partos)	Cantidad muestras	Categoría (días)
5	Cachorras 180 d	10	Lechón pre calostro
5	Cachorras 200 d	10	20
5	Cachorras 220 d	10	40
5	Cachorras 240 d	10	60
5	0 Parto	10	80
5	1 Parto	10	100
5	3 Partos	10	120
5	>= 5 Partos	10	140
		10	160
		10	Pre faena*
40	<= Total =>	90	

* en caso de tener al menos 15 días más que la categoría 160 días.

Solicitud de ensayos:

- Circovirus Porcino (PCV2) Real Time PCR (qPCR)
- Circovirus Porcino (PCV2) ELISA Biochek

Envío

- Enviar con conservantes.
- Completar el formulario de remisión de muestras (PRO 404 REG02 Pedido de Determinaciones) y enviarlo junto con las muestra.
- Dar aviso al Laboratorio, informando medio de transporte, número de guía y fecha estimada de arribo.

Aclaración:

Un buen diagnóstico depende fundamentalmente de una buena toma de muestra.

El laboratorio no podrá hacerse responsable de los resultados obtenidos a partir de muestras mal extraídas.