

TOMA DE MUESTRAS en necropsia porcina

1

La necropsia porcina puede dar mucha información sobre una enfermedad; sin embargo, para la obtención de un diagnóstico definitivo, en muchas ocasiones se requiere la toma de muestras para análisis adicionales.
¿Cómo deben ser estas muestras?

Frescas y bien conservadas.

Mejor de animales recién sacrificados
y en fase aguda de la enfermedad.

Evitar animales que hayan sido tratados.

MUESTRAS DE SANGRE

- ▶ Para hematología y bioquímica recoger en tubos con EDTA.
- ▶ *In vivo* o justo tras la eutanasia.

¿De dónde recogerla?

Vena cava anterior (hasta los 2 meses).

Vena yugular (engorde y finalización).

Venas de la cola y de las orejas (adultos).



Tubos con anticoagulante (EDTA-rosa, heparina-verde) para toma de sangre para análisis hematológicos y bioquímicos. Los tubos sin anticoagulante (rojo) se utilizan para obtener suero para test serológicos y bioquímicos.

HISTOPATOLOGÍA

- ▶ Conservar en formol al 10% y a temperatura ambiente.
- ▶ Proporción 1:10 y grosor de 0.5 cm.
- ▶ Recoger bordes de lesiones o incluir zonas sanas y afectadas.

Cerebro y globo ocular: los fijaremos intactos.

Intestino: abrir longitudinalmente
y recoger varias muestras.

TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA/ VIROLOGÍA Y MOLECULARES (PCR)

- ▶ **Muestras:** de sangre, orina, saliva, leche, líquido cefalorraquídeo o tejidos (enviar porciones grandes en este caso).
- ▶ Cada muestra debe ir en un recipiente individual.
- ▶ Según la sospecha de enfermedad, consultar las condiciones de conservación y envío.

Hisopado para zonas de necrosis o con exudado.

En caso de meningitis: hisopado de meninges
o 3^{er} ventrículo.

Se recomienda enviar el encéfalo entero.

Intestinos: sin abrir y con los extremos
anudados.

TOXICOLOGÍA

- ▶ **Muestras:** de tejidos (hígado, riñones y encéfalo), sangre, suero, contenido gástrico u orina de los animales muertos. Pienso y agua también se pueden analizar para encontrar toxinas.
- ▶ **Conservación:** congelar (menos sangre) o refrigerar.

PARASITOLOGÍA

Muestras:

- ▶ **Fecales:** en caso de parásitos intestinales.
 - ▶ **Músculos (lengua, masetero, intercostal):** triquinosis o cisticercosis.
 - ▶ **Raspados cutáneos:** sarnas.
- Para algunas parasitosis existen pruebas serológicas/moleculares específicas.

PERFILES GENÉTICOS

- ▶ Útil en enfermedades como el síndrome de estrés porcino.
- ▶ Las muestras de sangre suelen ser de elección, aunque se deberá contactar con el laboratorio.



En la siguiente tabla se muestran los **tipos de muestras** que se recomienda tomar durante la necropsia. Estas recomendaciones se pueden ampliar para un tejido o sistema en particular, dependiendo de las lesiones que nos encontremos.

| Sistema/Aparato | Histopatología | Microbiología/virología/PCR | Toxicología | Otros |
|-----------------------------|--|---|-----------------------------------|--|
| Respiratorio | Pulmón (x2, lóbulo medio y segmento apical), cornetes nasales | Tejido, hisopo | | |
| Digestivo | Hígado, estómago, intestino delgado (x3: duodeno, yeyuno e íleo), intestino grueso (x2, ciego y colon) | Tejido, hisopo, saliva | Hígado, contenido gástrico, heces | Heces (parasitología) |
| Linfo-hematopoyético | Nódulos linfáticos (x3: inguinal, mesentérico y mediastínico), tonsila, bazo, médula ósea | Tejido, hisopo tonsilar | | Sangre/suero (hematología, bioquímica, perfiles genéticos) |
| Urinario | Riñón, vejiga urinaria | Tejido, hisopo, orina | Orina | |
| Cardiovascular | Corazón | | | |
| Nervioso | Encéfalo, médula espinal, ganglio trigémino | Tejido, hisopo (meninge o tercer ventrículo), LCR | Tejido | |
| Musculo-esquelético | Músculos esqueléticos (psoas, diafragma, del hombro, muslos), huesos, articulaciones | Hisopo, tejido | | |
| Tegumentario | Piel (x2) | Tejido, hisopo | Pelo | Raspado (parasitología) |
| Reproductivo | Ovarios, útero, testículos, glándulas mamarias | Tejido, hisopo, leche | Leche | |
| Feto | Órganos parenquimatosos Placenta | Tejido, hisopo (contenido gástrico) | | |

EJEMPLOS

PARA LA TOMA DE MUESTRAS

Muestras de sangre



Toma de sangre *in vivo* de la vena yugular.



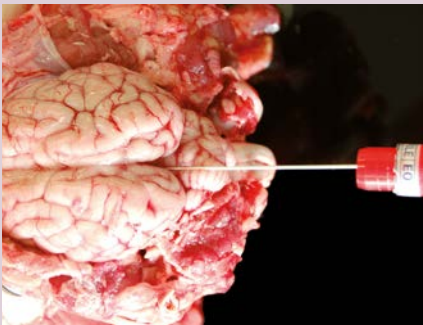
Toma de sangre *in vivo* de la vena cava craneal.

Muestras para histopatología



Toma de muestras de tejido para estudio histopatológico. Las muestras no deberían exceder 0,5 cm de grosor para facilitar su fijación; el intestino se debe abrir longitudinalmente.

Muestras para estudios microbiológicos



En caso de sospecha de meningitis, se pueden tomar muestras del tercer ventrículo con hisopos.



Se deben enviar porciones del intestino sin abrir y con los extremos anudados en caso de diarrea o presencia de lesiones entéricas.



Las muestras para estudios microbiológicos se deben empaquetar e identificar de forma separada.

Muestras estériles de orina y líquido cefalorraquídeo



Toma de muestra estéril de líquido cefalorraquídeo de la cisterna magna de la articulación atlantooccipital. El fluido es, en condiciones normales, transparente, y se debe evitar su contaminación con sangre.



Toma de muestra estéril de orina en tubos sin anticoagulante.

Muestras para coprología



Las muestras de heces se pueden tomar *in vivo* directamente del recto utilizando un guante desechable o durante la necropsia (del colon o recto).

Raspados cutáneos



Para la identificación de ácaros en la citología se realizan raspados cutáneos profundos.

MÉTODOS DE MUESTREO

En ocasiones se necesita averiguar si una infección está presente en la población o la proporción de animales afectados. Para lo primero, se emplea un método de muestreo intencionado o de conveniencia (seleccionando animales con

posibilidad de estar infectados), mientras que para conocer la prevalencia, las muestras deberán ser representativas de la población.

¿Cuál es el método de muestreo más adecuado para cada tipo y características de la población?

| Características de la población | Tipo de población | Método de muestreo adecuado |
|---|--|--|
| Homogéneo | Cerdos de engorde / matadero | Muestreo aleatorio simple: cada individuo tiene las mismas probabilidades de ser elegido |
| | | Muestro aleatorio sistemático: seleccionar el primero de forma aleatoria y tomar muestra al resto de forma regular |
| Diferentes estratos (edad, raza, número de animales) pero homogéneo en cada estrato | Explotaciones de ciclo cerrado, estratificadas por edad Explotaciones estratificadas por número de cerdas | Muestreo aleatorio estratificado: se clasifica la población en grupos según un factor (raza, edad, etc.) |
| Regiones similares (país) con granjas heterogéneas en cada una de ellas | Grupos de granjas en las regiones seleccionadas | Muestreo por conglomerado: grupos heterogéneos similares los unos a los otros. Muestreo por zona geográfica o tiempos |

¿Cuál será el tamaño de la muestra?

Para determinar el tamaño de muestra, tanto para averiguar si la enfermedad está presente como para conocer la prevalencia (o proporción), existen fórmulas, aunque habitualmente se emplean programas informáticos o tablas como las que aparecen a continuación.

Tamaño de muestra para detectar la presencia de la enfermedad con un nivel de confianza del 95%

| Nº de animales | Prevalencia esperada si la enfermedad está presente | | | | | | | | |
|----------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 90% | 80% | 70% | 60% | 50% | 40% | 30% | 20% | 10% |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 10 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 6 | 8 | 10 |
| 12 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 7 | 9 | 11 |
| 15 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 7 | 9 | 13 |
| 20 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 10 | 19 |
| 30 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 11 | 19 |
| 50 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 12 | 22 |
| 80 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 9 | 13 | 24 |
| 100 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 9 | 13 | 25 |
| 200 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 9 | 14 | 27 |
| 500 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 9 | 14 | 28 |
| 1.000 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 9 | 14 | 29 |

Tamaño de muestra para determinar la prevalencia con un nivel de confianza del 95%

| Prevalencia | Precisión esperada (exactitud) | | | | | | |
|-------------|--------------------------------|-----|-----|-----|-------|-------|--------|
| | 25% | 20% | 10% | 5% | 3% | 1% | 0,5% |
| 5% | 3 | 5 | 19 | 73 | 292 | 1.825 | 7.300 |
| 10% | 6 | 9 | 35 | 139 | 554 | 3.458 | 13.830 |
| 15% | 8 | 13 | 49 | 196 | 784 | 4.899 | 19.593 |
| 20% | 10 | 16 | 62 | 246 | 984 | 6.147 | 24.857 |
| 25% | 12 | 19 | 73 | 289 | 1.153 | 7.203 | 28.812 |
| 30% | 13 | 21 | 81 | 323 | 1.291 | 8.068 | 32.270 |
| 35% | 14 | 22 | 88 | 350 | 1.399 | 8.740 | 34.959 |
| 40% | 15 | 24 | 93 | 369 | 1.476 | 9.220 | 36.880 |
| 45% | 16 | 24 | 96 | 381 | 1.522 | 9.508 | 38.032 |
| 50% | 16 | 25 | 97 | 385 | 1.537 | 9.604 | 38.416 |